

Über die Darstellung neuer Flavoncarbonsäuren
und die Reaktion von Flavonen
mit Acetophenonderivaten

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Freien Universität Berlin

1967

vorgelegt von

Gotthard Wurm

aus Berlin

Druck:

ERNST-REUTER-GESELLSCHAFT
der Förderer und Freunde der Freien Universität Berlin e. V.

DISSERTATIONS-DRUCKSTELLE

1 Berlin 33, Garystr. 45

Über die Darstellung neuer Flavoncarbonsäuren
und die Reaktion von Flavonen
mit Acetphenonderivaten

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Gotthard Wurm

aus Berlin

1. Referent: Prof. Dr. Helmut Loth

2. Referent: Prof. Dr. Fritz Eiden



Letzter Tag der mündlichen Prüfung: 27.11.1967

Tag der Promotion:

22. DEZ. 1967

Diese Arbeit wurde am Pharmazeutischen Institut der Freien Universität Berlin auf Anregung und unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. Helmut Loth durchgeführt.

Herrn Prof. Loth danke ich sehr herzlich für sein Interesse an meiner wissenschaftlichen Arbeit, vornehmlich für die stete Bereitschaft, alle Probleme zu diskutieren und neue Anregungen zu geben.

Ich möchte mich an dieser Stelle aber auch für sein Mitgefühl meinen persönlichen Problemen gegenüber aufrichtig bedanken.

Dank schulde ich auch den Direktoren des Pharmazeutischen Instituts, meinem akademischen Lehrer Herrn Prof. Dr. Gerhard Schenck und Herrn Prof. Dr. Fritz Eiden.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung und Problemstellung	1
II. Allgemeiner Teil	12
Darstellung von 2'-Hydroxy-4',6'- dimethoxychalkoncarbonsäure-3 und -4	12
Darstellung von 5,7-Dimethoxyflavanon- carbonsäure-3' und -4'	13
Untersuchung der thermischen Isomerisierung von Chalkon-Flavanon-Isomerenpaaren	18
Darstellung von 5,7-Dimethoxyflavoncarbon- säure-3' und -4'	24
Darstellung von 5,7-Dihydroxyflavoncarbon- säure-3' und -4'	26
Untersuchung der Reaktion von in 3- und 5- Stellung hydroxylierten Flavonen mit Barbitursäure	28
Darstellung von 3-Hydroxy-5,7-dimethoxy- flavoncarbonsäure-3' und -4'	29
Entmethylierung von 3-Hydroxy-5,7-dimethoxy- flavoncarbonsäure-3' und -4'	31
Vollständige Entmethylierung von 3-Hydroxy- 5,7-dimethoxyflavoncarbonsäure-4' mit Bortribromid	32
UV- und IR-Spektren der Flavon- und Flavonolcarbonsäuren	33
Dünnschichtchromatographie der dargestellten Verbindungen	38
Versuche zur Darstellung von Säurederivaten der 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4':	41
1) Säurechlorid	41
2) Säureanhydrid	42
3) Direkte Darstellung des Phenolesters	42

	Seite
Untersuchung der Farbreaktion	44
Isolierung des Reaktionsproduktes B2b	49
Umwandlung von B2b und Isolierung der Folgeprodukte	52
Untersuchung der Umwandlung von B2b	56
Beobachtung eines weiteren Farbstoffs unter den Umwandlungsprodukten A3b und B3b	59
Versuche zur Reindarstellung von B2b und Isolierung von B1	63
Reaktionsprodukte	70
Untersuchung der Startreaktion	75
III. Durchführung der Versuche	78
A Darstellung der Ausgangsverbindungen	78
B Darstellung der Vergleichsverbindungen	78
C Darstellung der neuen Verbindungen	79
Bestimmung des Flavanongehaltes in Flavanon-Chalkongemischen:	90
A Durch Säuren und Basen katalysierte Isomerisierung	90
B Durch thermische Isomerisierung	92
IV. Literaturverzeichnis	94

I. Einleitung und Problemstellung

=====

Flavone sind 2-Phenylbenzo- γ -pyrone. Nach der heute gültigen Nomenklatur wird das Dreiringsystem folgendermaßen bezeichnet (Abb. 1):

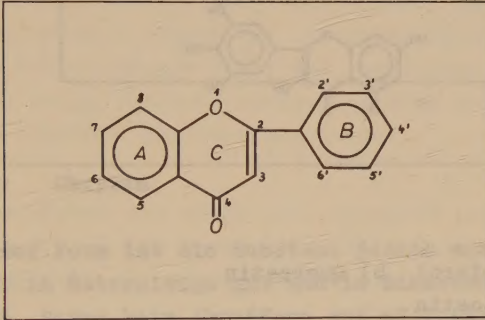


Abb. 1: Nomenklatur des Flavongerüsts

Flavonole sind 3-Hydroxyflavone.

Ausgangspunkt für diese Arbeit war die Suche nach einer Modellsubstanz, mit der die Reaktion von Peroxydase mit Flavonen, die in 5- und 7-Stellung hydroxyliert sind, untersucht werden konnte.

Loth (1), Klinge (2) und Heinrici (3) haben die Reaktion von Rutin (Quercetin-3-rhamnoglucosid), Kämpferol-3-glucosid und Myricitrin (Myricetin-3-rhamnosid) mit Peroxydase untersucht und gefunden, daß der Angriff an den Hydroxylgruppen des B-Ringes erfolgt.

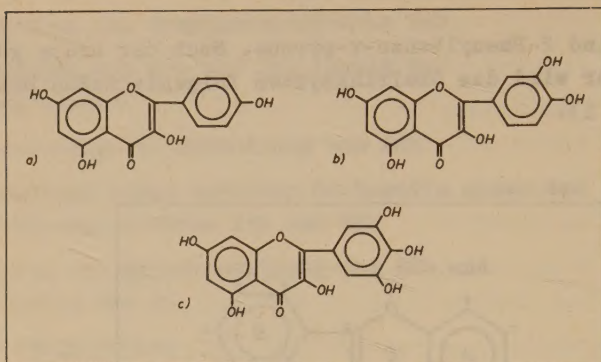


Abb. 2: a) Kämpferol b) Quercetin
c) Myricetin

Um prüfen zu können, ob und wie der in 5- und 7-Stellung hydroxylierte Ring A reagiert, mußte eine Substanz eingesetzt werden, bei der der Ring B frei von Hydroxylgruppen ist. Auch die 3-Stellung sollte nicht substituiert sein. Die zuvor aufgeführten Glykoside sind für eine Fermentreaktion hinreichend wasserlöslich. Ein wasserlösliches Flavon mit unsubstituiertem B-Ring und einem in 5- und 7-Stellung hydroxyliertem A-Ring steht als Naturstoff nicht zur Verfügung.

In Bezug auf die Substitution des Ringsystems entspricht das Chrysin den gestellten Anforderungen (s. Abb. 3).

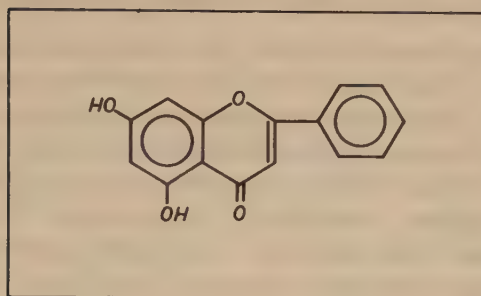


Abb. 3: Chrysin

In dieser Form ist die Substanz jedoch wasserunlöslich. Sie ist in Natronlauge gut und in Bikarbonatlösung wenig löslich. Schon beim Abpuffern auf pH 7 fällt die gesamte auf diese Weise gelöste Substanz aus.

Durch Einführung einer Carboxylgruppe bzw. Sulfonsäuregruppe in 3'- bzw. 4'-Stellung des B-Ringes sollte eine Lösung des Problems versucht werden (s. Abb. 4).

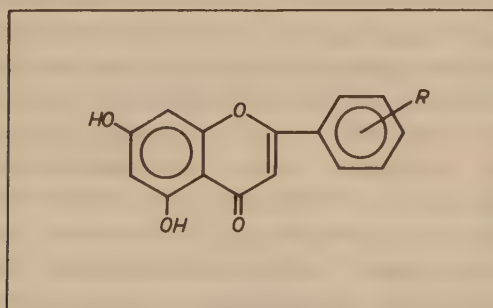


Abb. 4: Einführung hydrophiler Gruppen in den B-Ring des Chrysin: R = -COOH oder -SO₃H

Es konnte angenommen werden, daß derartige Säuren bzw. ihre Salze bei pH 7 und pH 6 stabile wäßrige Lösungen geben.

Flavonoide Verbindungen dieser Art sind noch nicht hergestellt worden. Die Synthese der 3'- und 4'-Carbonsäuren sowie die der entsprechenden permethylierten und partiell methylierten Derivate in der Flavon- und in der 3-Hydroxyflavonreihe wurden von uns ausgeführt und die Eigenschaften dieser Verbindungen untersucht. - Die Synthese der analogen 3'-Sulfonsäuren wurde versucht. Die großen Schwierigkeiten, die aber dadurch auftraten, daß schon die Vorstufen nicht zur Kristallisation gebracht werden konnten, gaben den Anlaß, die Arbeiten an dieser Substanzklasse zunächst zurückzustellen.

Zunächst sollen die Methoden, die heute zur Darstellung von Flavonen und Flavonolen - bei denen der Ring A ein Phloroglucinkern ist - zur Verfügung stehen, dargestellt und zusammengestellt werden.

1) Aus 2'-Hydroxychalkonen (Hydroxybenzalacetophenone) und den ihnen isomeren Flavanonen. Auf diesem Wege hat S.v.Kostanecki (4 u.5) die Substanzklasse der Synthese zugänglich gemacht. Ausgangssubstanzen sind o-Hydroxyacetophenone und aromatische Aldehyde. Für die Darstellung von Flavonolen mit Phloroglucinkern ist man auch heute häufig noch auf die von Kostanecki ausgearbeitete Methode - Darstellung und Verseifung des Flavanon-3-oxims - angewiesen. An sich lassen sich 2'-Hydroxychalkone in einer Einschrittreaktion mit Wasserstoffperoxid in stark alkalischer Lösung in Flavonole überführen (Algar-Flynn-Oyamada-Reaktion (6)). Trägt das Chalkon in 6'-Stellung jedoch eine Methoxylgruppe (z.B. bei Phloroglucinderivaten), so verläuft diese Reaktion mit wenigen Ausnahmen (besondere Substitution des B-Ringes) unter Verkürzung des Heteroringes in eine andere Richtung und führt vornehmlich zu anderen Produkten (7).

Zu Flavonen gelangt man auf diesem Wege allerdings viel günstiger durch Selendioxydoxydation von Chalkonen oder Flavanonen (8) (s. Abb. 5).

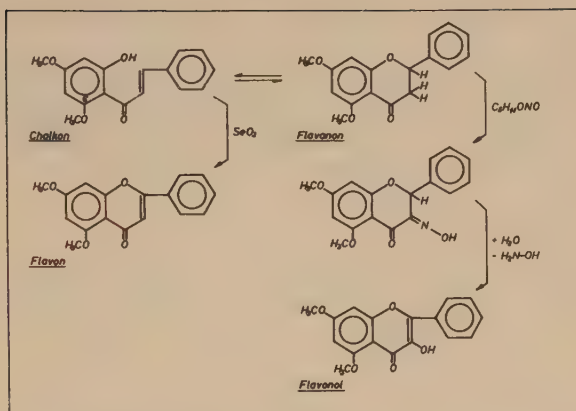


Abb. 5: Darstellung von Flavonen und Flavonolen aus 2'-Hydroxychalkonen

2) Aus 2-Alkoxydibenzoylmethanen durch Entalkylierung und gleichzeitigen Ringschluß. Auch dieser Weg wurde zuerst von Kostanecki (9) bei der Synthese des Flavons Chrysin beschritten. Die Darstellung erfolgt durch Claisenkondensation eines o-Alkoxyacetophenons mit dem Ester einer aromatischen Carbonsäure oder eines o-Alkoxycarbonsäureesters mit einem Acetophenon (s. Abb. 6).

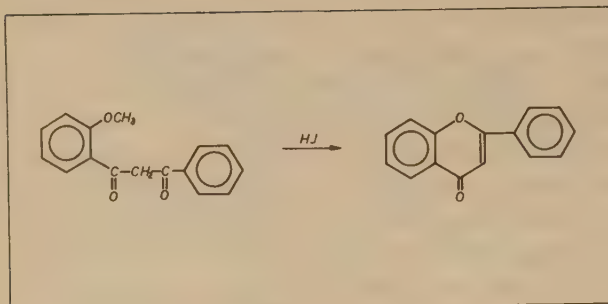


Abb. 6: Darstellung von Flavonen aus 2-Alkoxydibenzoyl-methanen

Durch Oxydation mit Perameisensäure gelingt es, die Carbinole der 2-Hydroxydibenzoylmethane (10) darzustellen. Ihr Ringschluß führt zu Flavonolen (s. Abb. 7).

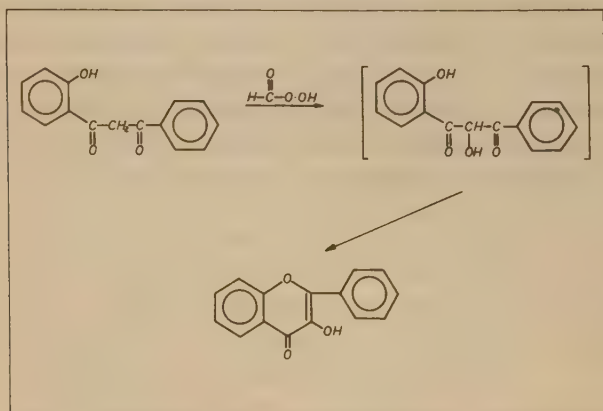


Abb. 7: Darstellung von Flavonolen aus 2-Hydroxydibenzoyl-methanen mit Perameisensäure

3) Ein entscheidender Fortschritt auf dem Wege zur Darstellung von Flavonen und Flavonolen ist die Baker-Venkataraman-umlagerung (11). Mit ihr gelingt auf einfachem Wege die Darstellung von 2-Hydroxydibenzoylmethanen durch Umlagerung von 2-Aroyloxyacetophenonen (Estern) mit Basen. Befindet sich in ω -Stellung des Ketons eine geschützte Sauerstofffunktion, so entstehen Flavonole (s. Abb. 8).

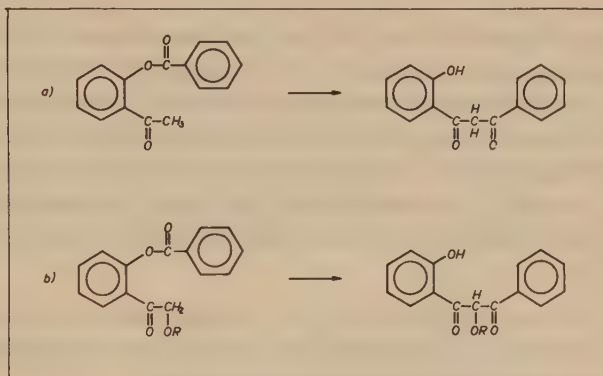


Abb. 8: Darstellung von 2-Hydroxydibenzoylmethanen aus 2-Aroyloxyacetophenonen zur Darstellung von
 a) Flavonen und b) Flavonolen

Ausgangsstoffe sind o-Hydroxyacetophenone und aromatische Säurechloride.

4) Eine um wenige Jahre ältere Variante der Baker-Venkataraman-Umlagerung ist die Allan-Robinson-Synthese (12). Man erhitzt ein o-Hydroxyacetophenon mit einem aromatischen Säurehydrid an und dem Natriumsalz derselben Säure. Der erste Schritt ist offenbar die Bildung eines o-Aroyloxyacetophenons (11), das dann nach Art der Baker-Venkataraman-Umlagerung weiterreagiert. Diese Methode ist besonders geeignet zur Darstellung von Flavonolen, wenn das Acetophenon in ω -Stellung eine geschützte Sauerstofffunktion besitzt. Bei Abwesenheit dieser Gruppe treten häufig nicht nur Flavone, sondern andersgeartete

Stoffe als Haupt- oder Nebenprodukte auf (13).

Zur Darstellung von 5,7-Dimethoxyflavon sowie des entsprechenden Flavonols existieren also zahlreiche Synthesemöglichkeiten. Da wir bei der Synthese der entsprechenden 3'- und 4'-Carbonsäuren von bekannten Ausgangsprodukten ausgehen wollten, wurde die Zahl der Darstellungswege eingeschränkt. Am leichtesten zugänglich erschienen Phloracetophenon und Phloracetophenondimethyläther sowie Benzaldehydcarbonsäure-3 und -4.

Die Synthese verläuft dann analog der von Kostanecki für die Darstellung des Galangins (14) ausgearbeiteten Methode über die entsprechenden Benzalacetophenone (Chalkoncarbonsäuren). Auf diese Weise erhält man außerdem die isomeren Flavanoncarbonsäuren. - Zahlreiche Schritte konnten direkt übernommen werden, in einigen Fällen wurden neuere Methoden angewendet und für einige Reaktionen wurde ein neuer Weg gefunden.

Von den von uns neu dargestellten Verbindungen und ihren Derivaten wurden die Eigenschaften untersucht und beschrieben, einige unserer Beobachtungen sind neu.

Der Arbeitskreis von Wheeler konnte "Diflavone" des in Abb. 9 gezeigten Typs mit einem A- und zwei B-Ringen darstellen (15).

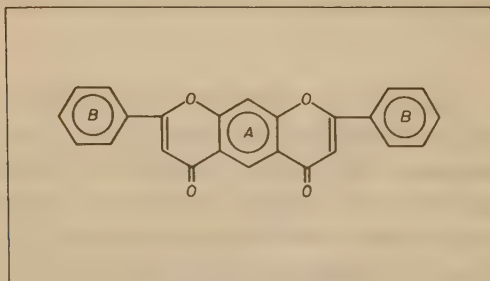


Abb. 9: "Diflavon". Zahlreiche Derivate wurden erstmals von Wheeler dargestellt

Wir wollten mit den von uns neu dargestellten Flavon-4'-carbonsäuren versuchen, eine ähnliche Verbindungsklasse mit zwei A- und einem B-Ring (p-Dichromonylbenzole entsprechend IV in Abb. 12) erstmals darzustellen.

Durch Einführung der Carboxylgruppe besitzt das Flavonsystem eine weitere funktionelle Gruppe. Stellt man daraus Säurehalogenide (I) her, so könnte man mit Phenolen Aroyloxyderivate darstellen. Ist das Phenol ein o-Hydroxyacetophenon, so gelangt man zu Estern des in Abb. 10 formulierten Typs (II).

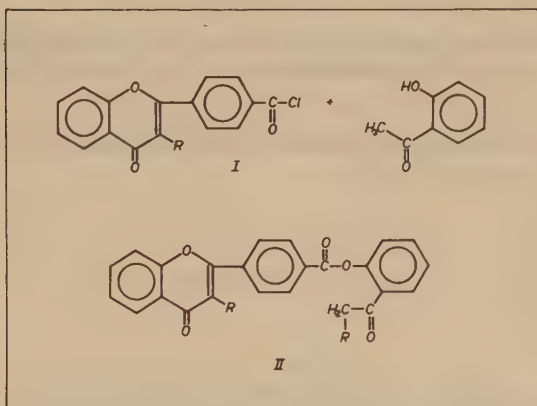


Abb. 10: Ester von Flavoncarbonsäuren und o-Hydroxyacetophenon: R = H oder CH₃O

Diese o-Aroyloxyacetophenone sollten durch Baker-Venkataraman-Umlagerung in Dibenzoylmethanderivate (III) umgewandelt werden (s. Abb. 11).

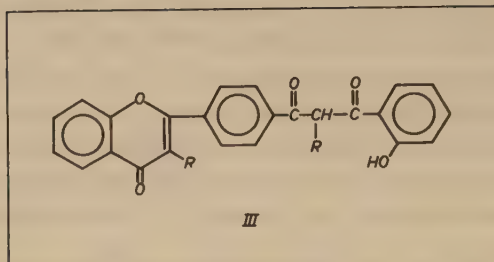


Abb. 11: Dibenzoylmethanderivat aus Flavoncarbonsäuren und o-Hydroxyacetophenon: R = H oder CH₃O

Durch Zyklisierung mit Säuren müßte ein neuer Flavontyp (IV) entstehen (s. Abb. 12).

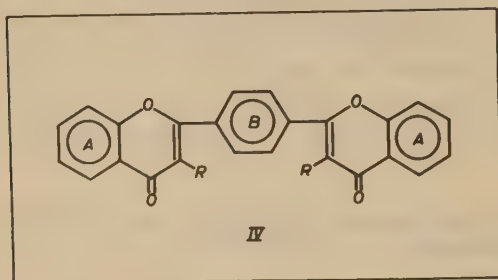


Abb. 12: p-Dichromonylbenzol: R = H oder CH₃O

Stellt man aus I symmetrische Säureanhydride und das Natriumsalz der Flavoncarbonsäuren her, so müßte man mit o-Hydroxyacetophenon den selben neuen Verbindungstyp darstellen können.

Über die Schwierigkeit, Säurederivate der neuen von uns

synthetisierten Flavoncarbonsäuren darzustellen, werden wir berichten. In diesem Zusammenhang wurde von uns eine neue Reaktion von Flavonen gefunden, die auch bei Derivaten ohne Carboxylgruppe abläuft.

II. Allgemeiner Teil

=====

Darstellung von 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbon- säure-3 und -4

In Anlehnung an die Arbeiten Kostaneckis zur Darstellung des Galangins (14) wurde Phloracetophenondimethyläther mit Benzaldehydcarbonsäure-3 bzw. -4 umgesetzt. Die Ausbeuten betrugen zunächst 10 - 20%. Durch Variation des Lösungsmittels und der Konzentration des Kondensationsmittels KOH wurde eine Erhöhung der Ausbeute angestrebt. Um das Ziel zu erreichen, waren KOH-Konzentrationen nötig (s. experimenteller Teil), die nicht nur mit der Neutralisation der Carboxylgruppe erklärt werden können. Mit Methanol gegenüber Äthanol als Lösungsmittel konnte die Ausbeute auf maximal 60% gesteigert werden. Um zu sehen, ob eine weitere Steigerung möglich sei, wurde auch POCl_3 als Kondensationsmittel eingesetzt (16), das sehr guten Erfolg gerade bei den Umsetzungen zeigen sollte, bei denen mit starken Alkalien schlechte Ausbeuten erhalten wurden. In diesem Fall fiel ein rotbraunes Produkt an, aus dem es nicht gelang, Chalkon zu isolieren.

Die beiden neuen Chalkoncarbonsäuren zeichnen sich durch ihre hohen Schmelzpunkte aus: 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonwäure-3, Fp 205° und 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäure-4, Fp $254 - 255^\circ$.

Darstellung von 5,7-Dimethoxyflavanoncarbonsäure-3' und 4'

Bei der Isomerisierung von Chalkonen und Flavanonen wirken Säuren und Basen als Katalysator. Eine häufig angewendete Methode, 2'-Hydroxychalkone, bei denen alle anderen OH-Gruppen methyliert sind, in die entsprechenden Flavanone umzuwandeln, besteht darin, die Verbindungen in wäßrig-alkoholischer Lösung mit starken Mineralsäuren (HCl, H₂SO₄, H₃PO₄) 24 Stunden zu kochen. Auf diese Weise verfuhr auch Kostanecki bei der Synthese von Galangin (14). Die Umwandlung ist nie quantitativ, das Gleichgewicht liegt aber meistens weit auf der Seite des Flavanons. Wurde ein derartiges Verfahren bei den Chalkoncarbonsäuren angewendet, so trat neben Isomerisierung auch partielle Decarboxylierung ein, wie dc (DC = Dünnschichtchromatographie, dc = dünn-schichtchromatographisch) mit authentischen Substanzen (2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkon und 5,7-Dimethoxyflavanon) gezeigt werden konnte (s. Chromatographie der Verbindungen). - Es mußte darum ein anderer Weg gesucht werden.

Bei der Verwendung von verdünnter Essigsäure zur Isomerisierung (17) der Chalkoncarbonsäuren trat keine Decarboxylierung ein. Nach zwölfstündigem Erhitzen der Chalkoncarbonsäure-4 mit 30%iger Essigsäure entstand eine blaßgelbe Lösung und nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur eine farblose Lösung über einem gelben Niederschlag. Wurde die farblose Lösung auf -10°C abgekühlt, so kristallisierte farblose 5,7-Dimethoxyflavanoncarbonsäure-4' - die mit alkoholischer Kalilauge wieder in das Ausgangschalkon überführt werden konnte - in 20%iger Ausbeute aus. Der gelbe Rückstand und die Mutterlauge konnten erneut eingesetzt werden und gaben weiteres dc einheitliches Flavanon.

Als dieselbe Methode auf die Chalkoncarbonsäure-3 übertragen wurde, konnte nicht sofort der gleiche Erfolg erzielt werden. Nach dem Abkühlen des Ansatzes auf Zimmertemperatur verblieb eine gelbe Lösung, aus der beim Abkühlen auf -10° gelbe Chalkon-Flavanon-Gemische kristallisierten. Wurde jedoch die 30%ige durch 20%ige Essigsäure ersetzt, dann entstand

in Analogie eine farblose Lösung. Die beim Abkühlen auf -10° erhaltenen Mengen an farbloser 5,7-Dimethoxyflavanoncarbonsäure-3' lagen allerdings unter 10%.

In einer analytischen Arbeit aus dem Jahre 1961 (18) wurde festgestellt, daß die Geschwindigkeit der Umwandlung von 2'-Hydroxychalkonen zu Flavanonen in schwach alkalischer Lösung besonders groß ist und daher hohe Flavanonausbeuten erzielt werden.

Löste man die Chalkoncarbonsäuren in Kaliumbicarbonatlösung unter Erwärmen auf, so entstanden sofort blaßgelbe, alkalisch reagierende Lösungen, aus denen beim Ansäuern das nur noch schwach gelb gefärbte Flavanon-Chalkongemisch präcipitierte. Aus den Gemischen gelang es nicht, durch Kristallisation reine Flavanoncarbonsäuren zu isolieren. Hierzu mußten die staubfein pulverisierten Substanzen solange mit wenig warmem Methanol digeriert werden, bis die Rückstände farblos waren; sie wurden abschließend aus Methanol umkristallisiert. Die Ausbeute an reinen Flavanoncarbonsäuren betrug bei dieser Methode auch ca. 20%. Durch erneuten Einsatz der angefallenen Lösungen konnte auch hier weiteres Flavanon gewonnen werden.

Anschließend wurde versucht, unabhängig von den präparativ erzielten Ausbeuten einen Überblick über die Isomerisierungsrate - das Verhältnis Flavanon zu Chalkon - für die einzelnen Methoden zu gewinnen.

Als Grundlage für eine Bestimmung von Flavanon neben Chalkon diente die unterschiedliche Umsetzung von Flavanonen und 2'-Hydroxychalkonen mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin. Flavanone setzen sich bei Zimmertemperatur in methanolischer Lösung mit dem Reagenz quantitativ um und fallen auf Grund der Schwerlöslichkeit des Hydrazons fast quantitativ aus. Die mit Methanol gewaschenen Hydrazone waren analysenrein, auch wenn sie aus Chalkon-Flavanon-Gemischen kristallisierten; diese Tatsache war wichtig für die Darstellung der Hydrazone der Flavanoncarbonsäuren, bei denen eine Umkristallisation zur weiteren Reinigung auf Grund der geringen Löslichkeit in allen bekannten Lösungsmitteln nicht

gelang. - 2'-Hydroxychalkone reagieren unter gleichen Bedingungen bei Zimmertemperatur nicht. Erst beim Kochen von konzentrierten Chalkonlösungen tritt Rotfärbung ein, und erst nach mehrstündiger Reaktionsdauer scheidet sich eine geringe Menge des Hydrazons ab.

Um festzustellen, ob eine auf dieser Grundlage durchgeführte quantitative gravimetrische Bestimmungsmethode für die gestellte Aufgabe ausreichend empfindlich ist, wurden zunächst Reinsubstanzen unter gleichen Versuchsbedingungen untersucht. Dabei wurde aus ca. 0,5 - 1%igen Lösungen wiedergefunden:

Von 5,7-Dimethoxyflavanon	97,8%
Von 5,7-Dimethoxyflavanon-carbonsäure-3'	97,2%
Von 5,7-Dimethoxyflavanon-carbonsäure-4'	98,3%

Aus der Mischung von 5,7-Dimethoxyflavanon und 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkon 1 : 1 wurde - berechnet auf das eingesetzte Flavanon - 97,2% gefunden.

Diese Ergebnisse erlauben wohl, die Bestimmungsmethode zum Vergleich der verschiedenen aufgezählten Isomerisierungsmethoden heranzuziehen. Der Isomerisierungsgrad wurde nicht nur im alkalischen und schwach sauren Milieu untersucht, sondern auch in stark mineralsaurer Lösung, da die 2,4-Dinitrophenylhydrazone der decarboxylierten Substanzen gleiche Lösungseigenschaften - wie gezeigt- haben. Als Modell für die Untersuchung diente 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäure-4, die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengefaßt:

<u>Reagenz</u>	<u>Reaktionszeit</u>	<u>% Flavanon</u>
KHCO ₃	-----	91,1%
HCl	24 Stunden	69,3%
H ₂ SO ₄	24 "	70,3%
H ₂ SO ₄	48 "	77,6%
CH ₃ COOH	12 "	76,0%

Tabelle 1: Flavanonausbeuten bei der Isomerisierung von 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäure-4 mit Säuren und Basen durch gravimetrische Bestimmung der Dinitrophenylhydrazonmengen

In KHCO_3 -Lösung wurde bei Einsatz von 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäure-3 ebenfalls eine Ausbeute von 91% Flavanon erzielt.

Die Ergebnisse stehen in Übereinstimmung mit der zuvor zitierten analytischen Arbeit (0/18).

Bei der Schmelzpunktbestimmung der Flavanoncarbonsäuren in einer Kapillare wurden folgende Beobachtungen gemacht:

- 1) 5,7-Dimethoxyflavanoncarbonsäure-3' hat einen sehr unscharfen und außerordentlich stark von der Erhitzungsgeschwindigkeit abhängigen Schmelzpunkt zwischen 180 und 190°.
- 2) 5,7-Dimethoxyflavanoncarbonsäure-4' hatte denselben Schmelzpunkt wie die isomere Chalkoncarbonsäure (Fp 254 - 255°). Der Mischschmelzpunkt ergab keine Depression.
- 3) Beide Flavanoncarbonsäuren färbten sich oberhalb 160° gelb und ergaben gelb gefärbte Schmelzen.

Hieraus wurde der Schluß gezogen, daß sich die Flavanoncarbonsäuren beim Erhitzen mehr oder weniger stark in die isomeren Chalkoncarbonsäuren umlagern und daß sich die wahren Schmelzpunkte der Flavanone durch die Kapillarmethode nicht ermitteln lassen.

Als eine Probe der 4'-Carbonsäure in einer Kapillare in den auf 225° vorgeheizten Schmelzpunktapparat nach Lindström eingebracht wurde, trat unter Gelbfärbung sofortiges Schmelzen ein, die Schmelze erstarrte jedoch augenblicklich zu einer kristallinen Masse und schmolz erneut bei 254 - 255° wie das isomere Chalkon. Anschließend wurde der Schmelzpunkt auf einem Schmelzblock (Entwurf zum DAB.7 West) durch successives Aufstreuen der Substanz ermittelt. Die hierbei gemessene Schmelztemperatur betrug 210°. Die sofort wieder erstarrte Probe wurde dc untersucht, sie bestand nur aus 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäure-4, Flavanon konnte nicht in Spuren nachgewiesen werden.

Die Schmelztemperatur, die für 5,7-Dimethoxyflavanoncarbonsäure-3' auf dem Block durch successives Aufstreuen der Substanz ermittelt wurde, betrug 194°. Als Schmelztemperatur

wurde dabei die Temperatur angesehen, bei der die Substanz innerhalb von 1 - 2 Sekunden geschmolzen war. Wurde längere Zeit gewartet, so trat schon bei 180° allmähliches Schmelzen ein, es bestand dann kein Unterschied zur Kapillarmethode. Im Gegensatz zur 4'-Carbonsäure erstarrte diese Schmelze nicht wieder zu einer kristallinen Masse. Wurde diese Probe nach dem Abkühlen untersucht, so konnten Chalkon und Flavanon nebeneinander nachgewiesen werden.

Über die bei der Schmelzpunktbestimmung der Flavanoncarbonsäuren beobachtete thermische Isomerisierung konnten in der Literatur keine Untersuchungen vorgefunden werden. Wir untersuchten daher das Verhalten von Chalkon-Flavanon-Isomerenpaaren auf ihr Verhalten beim Erhitzen. Dabei konnte das Schmelzverhalten der Flavanoncarbonsäuren erklärt werden.

Untersuchung der thermischen Isomerisierung von -Chalkon-Flavanon-Isomerenpaaren

In die Untersuchung wurden außer den neu dargestellten Carbonsäuren auch 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkon (Fp 91 - 92°) und 5,7-Dimethoxyflavanon (Fp 146 - 147°) einbezogen. Diese beiden Verbindungen unterscheiden sich von den Carbonsäuren dadurch, daß die Schmelzpunkte bei sehr viel niedrigeren Temperaturen liegen und daß der Schmelzpunkt des Flavanons über dem des Chalkons liegt. Die meisten bekannten Isomerenpaare verhalten sich analog. Bei den Carbonsäuren ist dies Verhältnis umgekehrt.

Die Durchführung der Untersuchung geschah folgendermaßen: Jeweils 2 mg der Substanzen wurden in einem Glühröhrchen 30 Minuten lang in einem thermostatisierten Ölbad auf eine bestimmte Temperatur erhitzt. Als Startpunkt für die Erhitzung von 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkon und 5,7-Dimethoxyflavanon wurde eine Temperatur von 90° gewählt, diese Temperatur liegt kurz unterhalb des Schmelzpunktes des Chalkons. Als Starttemperatur für die Untersuchung der Carbonsäuren wurde 140° gewählt, dieser Wert liegt 20° unter der Temperatur, bei der bei der Schmelzpunktbestimmung der Flavanoncarbonsäuren einsetzende Gelbfärbung beobachtet wurde. Unter Temperatursteigerung von jeweils 10° wurden solange neue Substanzproben zu 2 mg 30 Minuten lang erhitzt, bis mit 230° der Endpunkt des Untersuchungsbereiches erreicht war. (Oberhalb 230° traten Zersetzungsprodukte auf).

Die so erhitzten Proben wurden anschließend je nach Löslichkeit in 2 ml Äthanol oder n-Butanol gelöst und auf Kieselgel HF 254-Merck mit wassergesättigtem n-Butanol dc untersucht. Hierbei wurde eine gute Trennung aller vorliegenden Chalkone und Flavanone erreicht.

Die Ergebnisse der Untersuchung sind in einer Tabelle zusammengestellt (s. Tabelle 4).

Oberhalb 230° traten bei allen Verbindungen Zersetzungsercheinungen auf. Dc wurden in allen Fällen nicht identifizierte braune Produkte und bei den Carbonsäuren zusätzlich die decarboxylierten Verbindungen nachgewiesen. Daher bildet

auch die 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäure-4 bei längerem Erhitzen oberhalb 230° eine Schmelze.

Unterhalb 230° konnten außer Chalkon und Flavanon keine weiteren Stoffe nachgewiesen werden. Diese Feststellung ist für die Durchführung der später beschriebenen quantitativen Untersuchung von Wichtigkeit. Das Auftreten von Flavon wurde untersucht und die Ursache geklärt.

Auswertung der Ergebnisse:

- 1) Die Schmelzen der untersuchten Chalkone und Flavanone bestanden stets aus einem Gemisch von Ausgangsverbindung und dem entsprechenden Isomeren. Das trifft auch für das bei relativ niedriger Temperatur schmelzende 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkon zu.
- 2) Bei den Flavanoncarbonsäuren trat bereits bei 160° - also weit unterhalb der entsprechenden Schmelztemperaturen - Isomerisierung ein, bei den Chalkoncarbonsäuren dagegen erst in unmittelbarer Nähe der Schmelztemperaturen.
- 3) Für das Isomerenpaar der 4- bzw. 4'-Carbonsäuren existiert zwischen 200 und 230° ein Bereich, in dem reines Chalkon vorliegt. In diesem Temperaturbereich ist 5,7-Dimethoxyflavanon nicht existenzfähig. Bei derart hohen Temperaturen lagen bei den anderen Isomerenpaaren stets Gemische vor.
- 4) Aus der Tabelle ist nicht ersichtlich, daß bei Temperaturen oberhalb 150° auch die analogen Flavone stets dann nachgewiesen werden konnten, wenn Flavanon vorhanden war.
- 5) Bei dem Isomerenpaar der 4- bzw. 4'-Carbonsäuren konnte daher im Temperaturbereich von 200° bis 230° - in dem das Flavanon nicht existenzfähig ist, kein Flavon nachgewiesen werden.
- 6) Bei Ausschluß von Luftsauerstoff - durch Einschmelzen der Substanzen in kleine mit CO_2 gefüllte Glasröhrchen - unterbleibt die Flavonbildung.

Diese Beobachtung stützt die Vermutung T.S. Seshadris (29), der bei der Selendioxydation von Chalkonen annimmt, daß als Zwischenprodukte Flavanone gebildet werden, die dann zu

Substanz	Fp	90°	100°	110°	120°	130°	140°	150°	160°	170°	180°	190°	200°	210°	220°	230°	240°
2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkon	91°-92°	Ch	Ch F														→
5,7-Dimethoxyflavanon	146°-147°	F					F Ch										→
2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäure-3	205°						Ch						Ch F				→
5,7-Dimethoxyflavanoncarbonsäure-3'	194° (180°-190°)						F	→	F Ch								→
2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäure-4	254°-255°						Ch										Ch F
5,7-Dimethoxyflavanoncarbonsäure-4'	210° (254°-255°)						F	→	F Ch				Ch				F Ch

Tabelle 2: Zusammenstellung der dc gewonnenen Ergebnisse beim Erhitzen von 2'-Hydroxychalkonen (Ch) und Flavانونen (F). Auf der rechten Seite der ausgezogenen Linie liegen Schmelzen vor.

Flavonen dehydriert werden.

Im Anschluß an diese qualitative Untersuchung sollte versucht werden, durch eine quantitative Methode festzustellen, in welchem ungefähren Verhältnis Chalkon und Flavanon bei verschiedenen Temperaturen nebeneinander vorliegen. Als Modellsubstanzen wurden 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkon und 5,7-Dimethoxyflavanon verwendet. Auf vereinfachtem Wege wurde nur das entweder durch thermische Isomerisierung neu entstandene oder das nach der Isomerisierung noch vorhandene Flavanon bestimmt. Als Bestimmungsmethode diente die für die Untersuchung der durch Säuren und Basen katalysier-

ten Isomerisierung von Chalkonen ausgearbeitete Fällungsanalyse von Flavanonen als Dinitrophenylhydrazone. Zur Unterbindung der Flavenbildung durch Autoxydation des Flavanons wurden die Proben in kleine mit CO₂ gefüllte Glasrohre eingeschmolzen. Die Röhrchen wurden im thermostatisierten Ölbad 30 Minuten lang erhitzt.

Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen zusammengefaßt (s. Tabelle 3 und 4):

Temperatur (°C)	% Flavanon
120°	6,6 %
160°	22,7 %
210°	<u>25,9 %</u>

Tabelle 3: Bestimmung des Flavanons nach Erhitzen von 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkon (Fp 91-92°) über 30 Minuten.

Temperatur (°C)	% Flavanon
145°	91,0%
160°	36,3 %
210°	<u>25,9 %</u>

Tabelle 4: Bestimmung des Restflavanons nach Erhitzen von 5,7-Dimethoxyflavanon (Fp 146 - 147°) über 30 Minuten.

Mit der niedrigsten Temperatur sollte die thermische Isomerisierung von Chalkon und Flavanon am Schmelzpunkt untersucht werden. Am Schmelzpunkt des Chalkons ist die Ausbeute an Flavanon jedoch so gering, daß es mit der angewendeten Meßmethode nicht erfaßt werden konnte. Es wurde darum eine willkürliche Erhöhung der Anfangstemperatur um 30° vorgenommen, das entspricht etwa der halben Differenz, die zwischen den Schmelzpunkten von Chalkon und Flavanon liegt.

Bei Temperaturen oberhalb 200° stellte sich ein konstantes Verhältnis von Chalkon und Flavanon ein, unabhängig davon, ob reines Chalkon oder reines Flavanon eingesetzt wurde. Das Gleichgewicht ist dabei zu Gunsten des Chalkons verschoben. Bei tieferen Temperaturen stehen Versuche mit längeren

Reaktionszeiten noch aus.

Mit den Meßergebnissen und der Auswertung der dc Untersuchung ist es möglich, das Schmelzverhalten der Flavanoncarbonsäuren zu erklären:

Erhitzt man 5,7-Dimethoxyflavanoncarbonsäure-4' sofort auf seinen Schmelzpunkt oder eine darüberliegende Temperatur, so entsteht augenblicklich eine Schmelze. Da in diesem Temperaturbereich das Chalkon-Flavanon-Gleichgewicht stark zu Gunsten des Chalkons - dessen Schmelzpunkt 45° über dem des Flavanons liegt - verschoben ist, kristallisiert das Chalkon aus der Schmelze aus. Dieser Vorgang führt zu einer quantitativen Umwandlung von Flavanon in Chalkon. Erhitzt man 5,7-Dimethoxyflavanoncarbonsäure-4' dagegen allmählich auf ihren Schmelzpunkt, so ist die quantitative Umwandlung zum Chalkon offensichtlich schon abgeschlossen, denn es entsteht bei 210° oder darunter (Mischschmelzpunkt) nicht die Andeutung einer Schmelze, sondern die Substanz schmilzt erst 45° höher am Schmelzpunkt von 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäure-4.

Anders liegen die Verhältnisse bei der 5,7-Dimethoxyflavanoncarbonsäure-3'. Hier beträgt die Differenz der Schmelzpunkte beider Isomeren nur etwa 10° und der Schmelzpunkt des Flavanons liegt in einem Temperaturbereich, in dem das Gleichgewicht beider Isomeren zur Seite des Chalkons aber weniger weit als bei der 4'-Carbonsäure verschoben ist. Es entstehen daher in Abhängigkeit von der Geschwindigkeit der Temperaturerhöhung (Erhitzungsdauer) Flavanon-Chalkongemische unterschiedlicher Zusammensetzung, deren jeweilige Mischschmelzpunkte gemessen werden.

Zusammenfassung: Die quantitative Umwandlung der 5,7-Dimethoxyflavanoncarbonsäure-4' in das isomere Chalkon im Temperaturbereich von 200° bis 230° ist ein Sonderfall, er ist abhängig von folgenden Tatsachen:

- 1) Die Isomeren haben Schmelzpunkte, die oberhalb 200° liegen.
- 2) Der Schmelzpunkt des Chalkons liegt über dem des Flavanons. (Bei den meisten bekannten Isomerenpaaren ist

das Verhältnis umgekehrt).

- 3) Die Schmelzpunktdifferenz zwischen Chalkon und Flavanon beträgt fast 50° .

Im Zusammenhang mit den Untersuchungen über die thermische Isomerisierung sollte versucht werden, ob die gewonnenen Ergebnisse auch zur Lösung eines präparativen Problems eingesetzt werden konnten.

Die Darstellung von 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäure-4-methylester bereitete Schwierigkeiten. Beim Einleiten von Chlorwasserstoff in die methanolische Lösung der Säure oder bei Zugabe der berechneten Menge Diazomethan wurden Produkte erhalten, die nicht zur Kristallisation gebracht werden konnten. Die dc Untersuchung ergab jeweils mehrere Substanzflecke.

Dagegen konnte aus 5,7-Dimethoxyflavanoncarbonsäure-4' mit Diazomethan der Ester (Fp 131°) in guten Ausbeuten dargestellt werden. Aus ihm sollte nun durch thermische Isomerisierung der Chalkoncarbonsäureester dargestellt werden. Hierzu wurde die farblose Ausgangsverbindung in ein mit CO_2 gefülltes Glasrohr zur Unterbindung der Autoxydation eingeschmolzen und in einem Ölbad 30 Minuten auf 210° erhitzt. Das gelbe Reaktionsprodukt wurde aus Methanol umkristallisiert. Es entstanden in 70%iger Ausbeute intensiv gelbe Kristalle mit einem scharfen Schmelzpunkt von 144° , die chromatographisch einheitlich waren. Nur in der Mutterlauge konnte noch Ausgangssubstanz dc nachgewiesen werden. Mit alkoholischer Kalilauge konnte die neue Verbindung in 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäure-4 zurückgeführt werden.

Darstellung von 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-3' und 4'

Die neuen Verbindungen entstanden durch Selendioxyd-oxydation (8) der gesättigten Amylalkohollösungen von 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäure-3 bzw. -4.

Die Vollständigkeit der Umwandlung wurde zunächst in Abhängigkeit von der Reaktionszeit - laut Literatur liegt sie zwischen 12 und 20 Stunden - kontrolliert. Nach 24 Stunden und dem in der Literatur üblichen Mengenverhältnis von Chalkon zu SeO_2 wie 1:1 war die Oxydation unvollständig, es konnten Chalkon, Flavanon und Flavon nebeneinander nachgewiesen werden. Erst bei einem Mengenverhältnis von 1:1,5 für die 3-Carbonsäure und von 1:2 für die 4-Carbonsäure war die Umsetzung nach 20 Stunden vollständig. Die Flavoncarbonsäuren sind in den bekannten Alkoholen und auch in Isoamylalkohol schwer löslich und fallen aus dem Reaktionsansatz zum größten Teil aus. Es fielen 2 verschieden gefärbte Rohprodukte an: Das der 3'-Carbonsäure war blaßgelb, das der analogen 4'-Carbonsäure dagegen rötlich gefärbt. Durch Umkristallisation aus Eisessig und Dimethylformamid gelang es nicht, analysenreine Produkte darzustellen. Darum wurden zunächst mit Diazomethan in n-Butanol die beiden Methylester hergestellt. Im Falle der Flavoncarbonsäure-3' gelang dabei sofort die Darstellung einer reinen Substanz, im Falle der Flavoncarbonsäure-4' konnte auch auf diesem Wege der rote Farbstoff nicht abgetrennt werden. Zur Veresterung wurde hier darum in die Suspension der Carbonsäure in Methanol Chlorwasserstoff eingeleitet. Es entstanden dabei ein gelber kristalliner Rückstand und eine tief rotbraun gefärbte Lösung. Der Ansatz blieb 12 Stunden bei -10° stehen, dann wurde die Mutterlauge verworfen, der kristalline Rückstand wurde zum analysenreinen Ester aufgearbeitet.

Durch alkalische Verseifung der so gereinigten Ester und Kristallisation der freien Carbonsäuren aus n-Butanol wurden dann auch diese Verbindungen analysenrein erhalten. - Die freien Carbonsäuren haben hohe Schmelzpunkte, die 3'-Carbonsäure schmilzt jedoch fast 40° tiefer als die 4'-Carbonsäure. Die Methylester haben wesentlich tiefere und schärfere Schmelzpunkte, die Differenz beträgt nur

noch 5° (s. experimenteller Teil).

Derivate: Von der 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4' und ihrem Methylester wurden Derivate mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin (19) und mit Barbitursäure (20) hergestellt. Die besseren Ausbeuten wurden jeweils mit dem Ester erzielt, die Umsetzungsprodukte mit Barbitursäure sind schwerlösliche Verbindungen ohne Schmelzpunkt (oberhalb 350° tritt Zersetzung ohne Schmelzen ein), die Dinitrophenylhydrazone sind ebenfalls schwerlöslich und haben hohe Schmelzpunkte. - Die Darstellung der Dinitrophenylhydrazone bereitete zunächst Schwierigkeiten, denn die einzige von Mozingo und Adkins nach der Methode von Brady bisher beschriebene Methode zur Darstellung von Flavon-2,4-dinitrophenylhydrazon (19) wurde ohne Erfolg erprobt. Die Schwierigkeit wurde umgangen, indem die Flavoncarbonsäure und ihr Ester mit dem Reagenz und Amylalkohol langsam zur Trockne eingedampft wurden.

Darstellung von 5,7-Dihydroxyflavoncarbonsäure-3' und 4'

Die Darstellung dieser Verbindungen erfolgte durch Ätherspaltung der entsprechenden 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäuren mit Jodwasserstoffsäure. Als Reagenz diente eine Mischung aus farbloser Jodwasserstoffsäure, Eisessig und Essigsäureanhydrid, wie sie auch von Baker und Robinson zur Entmethylierung von 5,7,4'-Trimethoxyisoflavin zu Genistein (21) verwendet wurde, und in der sich die Flavoncarbonsäuren gut lösen. Es stellte sich jedoch heraus, daß die von den Autoren beschriebene Reaktionszeit von 20 Minuten für die vollständige Entmethylierung der Flavoncarbonsäuren nicht ausreichte. Es entstanden jeweils Gemische der 5-Hydroxy-7-methoxy- und 5,7-Dihydroxyflavoncarbonsäuren (DC), aus denen durch fraktionierte Kristallisation die Abtrennung der 5-Hydroxy-7-methoxyflavoncarbonsäuren gelang. Diese Struktur mußte angenommen werden, da die CH_3O -Gruppe in 7-Stellung (22) weitaus stabiler gegenüber ätherspaltenden Reagenzien als die CH_3O -Gruppe in 5-Stellung (23) ist. Außerdem diente als Strukturbeweis die Tatsache, daß die Verbindungen mit Barbitursäure keine Kondensationsprodukte lieferten; hierüber wird noch berichtet.

Für die quantitative Entmethylierung war dreistündiges Kochen mit dem beschriebenen Reagenz nötig, eine Erhöhung der Jodwasserstoffkonzentration brachte keine Verkürzung der Reaktionszeit.

Zur Reinigung der Rohprodukte wurden die Diacetate hergestellt. Nach ihrer Verseifung ergab die Elementaranalyse für die 5,7-Dihydroxyflavoncarbonsäure-3' gute, für die entsprechende 4'-Carbonsäure jedoch schlechte Werte:

Ber. 64,4 % C	3,38 % H
Gef. 62,6 % C	3,83 % H

Die Werte erfuhren auch durch häufiges Umkristallisieren des Diacetats und des Verseifungsproduktes aus Methanol und Äthanol keine Verbesserung, obgleich die Substanzen einheitlich erschienen. Darum wurde die Verbindung auf ihre Identität mit einer Flavoncarbonsäure untersucht:

- 1) Die UV-Spektren der Substanz und der 5,7-Dimethoxyflavon-carbonsäure-3' waren sehr ähnlich.
- 2) Die Substanz löste sich quantitativ in Kaliumbicarbonat-lösung: Es konnte keine Decarboxylierung eingetreten sein.
- 3) Die Substanz kondensierte nicht mit Barbitursäure. Auch das Diacetat, bei dem die Chelatisierung der Carbonylgruppe mit der Hydroxylgruppe in 5-Stellung aufgehoben ist, reagierte nicht, so daß angenommen wurde, die Flavonstruktur sei nach der Entmethylierungsreaktion nicht mehr erhalten.
- 4) Darum wurde die Substanz abschließend quantitativ mit Dimethylsulfat und K_2CO_3 in Aceton methyliert, da durch Darstellung der Ausgangsverbindung die Erhaltung der Flavonstruktur am besten bewiesen werden konnte. Das Reaktionsprodukt stimmte in allen analytischen Daten (Rf-Wert, Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt) mit 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4'-methylester überein. Durch Verseifung entstand die freie Säure. Beide Produkte konnten mit Barbitursäure kondensiert werden. Damit war die Flavonstruktur des Entmethylierungsproduktes der 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4' bewiesen, aber das unterschiedliche Reaktionsverhalten mit Barbitursäure noch nicht geklärt. Über die Untersuchung dieses Problems wird im Anschluß berichtet.

Für die Reinigung der 5,7-Dihydroxyflavoncarbonsäure-4' mußte nur noch eine geeignete Methode gefunden werden. Diese bestand in häufiger Kristallisation des Rohproduktes aus n-Butanol, das überhaupt als Lösungsmittel für die flavonoiden Carbonsäuren besondere Bedeutung besaß.

Untersuchung der Reaktion von in 3- und 5-Stellung
hydroxylierten Flavonen mit Barbitursäure

F. Eiden (20) fand bei der Umsetzung von Quercetin - einem Flavon mit OH-Gruppen in 3- und 5-Stellung zur Carbonylgruppe - mit Barbitursäure in Acetanhydrid und Eisessig, daß lediglich acetyliertes Quercetin entstand. Eigene Versuche ergaben, daß Pentamethylquercetin glatt mit Barbitursäure reagierte, während sich Pentaacetylquercetin nicht umsetzte. Ebenso reagierte Pentabenzylquercetin unter Bildung einer intensiv roten Verbindung während Pentabenzoylquercetin keine Reaktion zeigte. Es konnte also folgender Schluß gezogen werden:

Flavone mit freien und acylierten OH-Gruppen in 3- und 5-Stellung kondensieren nicht mit Barbitursäure, während in 3- und 5-Stellung alkylierte Hydroxyflavone glatt unter Bildung der bekannten tiefrot gefärbten Kondensationsprodukte reagieren.

Darstellung von 3-Hydroxy-5,7-dimethoxyflavoncarbonsäure-3' und 4'

Die Darstellung dieser Verbindungen erfolgte durch saure Verseifung der entsprechenden Isonitrosoflavanone, die analog zu der Vorschrift von Kostanecki (14) durch Umsetzung der Flavanoncarbonsäuren mit Isoamylnitrit dargestellt wurden. Die Isolierung der Oxime gelang jedoch nicht. Sie wurden darum sofort nach Reaktionsschluß im Reaktionsansatz verseift (24). Im Verseifungsansatz konnten nebeneinander die freien Carbonsäuren (I), die entsprechenden Methylester (II) und das durch Decarboxylierung entstandene 3-Hydroxy-5,7-dimethoxyflavon (III) nachgewiesen werden. Die Abtrennung von III gelang durch Kristallisation aus Eisessig, die Trennung von I und II durch Extraktion mit Chloroform, in dem der Ester sehr gut löslich, die freie Säure aber praktisch unlöslich ist. Durch alkalische Verseifung von II wurde I erhalten. Die Ausbeute an Flavonolcarbonsäuren - die mit Spuren von Metallionen (z.B. Zn und Fe) intensiv gelbgrün fluoreszierende Komplexe bilden - lag bei 30%. Der Schmelzpunkt der 3'-Carbonsäure beträgt 280° , der der 4'-Carbonsäure 310° .

Algar-Flynn-Oyamada-Reaktion:

Im Zusammenhang mit der Darstellung von Flavonolcarbonsäuren versprach die Anwendung der AFO-Reaktion auf das Problem einen interessanten Versuch. Die wesentlichen Züge dieser Reaktion sind:

- 1) 2'-Hydroxychalkone bilden mit H_2O_2 in stark alkalischer Lösung Flavonole (6).
- 2) 2'-Hydroxychalkone mit einer CH_3O -Gruppe in 6'-Stellung bilden unter denselben Bedingungen vornehmlich Aurone (25).
- 3) Wird unter den gleichen Voraussetzungen in der Hitze gearbeitet, so entstehen neben Auronen auch in größerer Menge Flavonole (7).
- 4) OH-Gruppen in 2- bzw. 4-Stellung der 2'-Hydroxychalkone heben den Einfluß der CH_3O -Gruppe in 6'-Stellung weitgehend wieder auf (26 und 27).

Wenn eine OH-Gruppe in 4-Stellung als elektronenschiebender

Substituent die Flavonolbildung fördert, dann müßte eine Carboxylgruppe als elektronenziehender Substituent an gleicher Stelle einen zusätzlich hindernden Einfluß ausüben. Tatsächlich konnte von uns selbst bei Durchführung der AFO-Reaktion an 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäure-4 in der Hitze das entsprechende Flavonol nicht einmal in Spuren nachgewiesen werden. - Es muß erwähnt werden, daß sich die 3-Carbonsäure gleichartig verhielt.

Entmethylierung der 3-Hydroxy-5,7-dimethoxyflavoncarbonsäure-3' und -4' zur Darstellung von 3,5,7-Trihydroxyflavoncarbonsäuren

Zur Entmethylierung der Flavonolcarbonsäuren mit Jodwasserstoffsäure wurde dasselbe Reagenz verwendet wie zur erfolgreichen Ätherspaltung der Methoxyflavoncarbonsäuren.

Auch die 3-Hydroxy-5,7-dimethoxyflavoncarbonsäuren lösten sich zunächst in dem Reagenz auf. Nach fünf Minuten langem Kochen begannen sich die Ansätze zu trüben und nach 15 Minuten war ihre Konsistenz breiig geworden. Beim Aufarbeiten dieser Suspensionen erhielten wir die 3,5-Dihydroxy-7-methoxyflavoncarbonsäuren in guten Ausbeuten. Zur vollständigen Spaltung mußten die Verbindungen analog zur Darstellung der Dihydroxyflavoncarbonsäuren drei Stunden mit dem Reagenz gekocht werden. Nach einstündigem Kochen bereits begannen sich die gelben Suspensionen allmählich in tiefrote Lösungen zu verwandeln. Beim Aufarbeiten dieser Ansätze wurden in 15%iger Ausbeute rotbraune Präcipitate gewonnen. Es konnten neben anderen jeweils ein intensiv gelber Fleck - bei dem es sich nach Beurteilung der Rf-Werte um die gesuchten Verbindungen handeln konnte - und ein roter Fleck nachgewiesen werden. Durch Kristallisation gelang keine Trennung und Reinigung der Substanzen. Da angenommen werden mußte, daß die eingesetzten Flavonolcarbonsäuren unter dieser Bedingung der Ätherspaltung zu wasserlöslichen Produkten abgebaut werden - es konnten nur etwa 15% der eingesetzten Substanzen durch Verdünnen des Ansatzes mit Wasser gefällt werden - und eine Reinigung durch Kristallisation nicht möglich war, erschien diese Methode zur Darstellung der Trihydroxyflavoncarbonsäuren ungeeignet. - Quercetinpantamethyläther konnte auf diesem Wege mit guten Ausbeuten ohne die beobachtete Zersetzung gespalten werden und auch hier liegt ein Polyhydroxyflavonol vor.

Vollständige Entmethylierung von 3-Hydroxy-5,7-dimethoxy-flavoncarbonsäure-4 mit Bortribromid

1963 wurde Bortribromid bei niedrigen Temperaturen als kräftiges Entmethylierungsreagenz für aromatische Äther zur Darstellung empfindlicher Phenole mit großem Erfolg eingesetzt (28).

Der Nachteil, der die erfolgreiche Anwendung der Methode die Entmethylierung der 3-Hydroxy-5,7-dimethoxyflavoncarbonsäure-4' in Frage stellte, bestand darin, daß die Substanz in den vorgeschlagenen inerten Lösungsmitteln n-Pentan und Methylenchlorid praktisch unlöslich ist. Wir entschlossen uns trotzdem zur Durchführung der Reaktion mit der Suspension der Carbonsäure in Methylenchlorid. Der Erfolg rechtfertigte den Versuch. Nach einer Reaktionszeit von 48 Stunden bei Zimmertemperatur wurden beim Aufarbeiten des Ansatzes mit Wasser die 3,5,7-Trihydroxyflavoncarbonsäure-4' und beim Aufarbeiten mit Methanol der entsprechende Methylester in sehr guten Ausbeuten gewonnen.

UV- und IR-Spektren der Flavon- und Flavonolcarbonsäuren

Die Unterschiede zwischen den entsprechenden 3'- und 4'-Carbonsäuren sowohl in Beziehung auf die Lage der Absorptions-Minima und -Maxima und deren $\log \epsilon$ -Werte bei den UV-Spektren (s. Tabelle 2) als auch in Beziehung auf die Lage der Absorptionsbanden bei den IR-Spektren (s. Tabelle 3) sind gering.

Die UV-Spektren der Flavoncarbonsäuren entsprechen prinzipiell dem Chrysinpektrum (5,7-Dihydroxyflavon), die der Flavonolcarbonsäuren dem Galanginspektrum (3,5,7-Trihydroxyflavon) (s. Abb. 14 und 15).

Die IR-Spektren zeigen:

- 1) Ein intensives Signal zwischen 1600 und 1650 cm^{-1} , das analog zum Chrysin und seinem Dimethyläther in zwei Spitzen aufgespalten ist (Ausnahmen s. Tabelle 3) und der Carbonylgruppe zuzuordnen ist.
- 2) Ein Signal zwischen 1665 und 1720 cm^{-1} , das der Carboxylgruppe zuzuordnen ist.
- 3) Eine sehr breite Bande zwischen 2880 und 3380 cm^{-1} , die nur bei der 3,5,7-Trihydroxyflavoncarbonsäure-4' eine ausgeprägte Spitze besitzt. Sie ist ebenfalls der Carboxylgruppe zuzuordnen. Da in diesem Bereich auch die Signale chelatisierter und nicht chelatisierter OH-Gruppen liegen, wird ihre Erkennung erschwert oder verhindert.

Verbindung		max (n m)	log ε	min (n m)	log ε
	3'	340	4,43	262	3,53
2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxy- chalkoncarbonsäure	4'	345	4,48	262	3,52
	3'	282,5 223	4,27 4,45	249	3,35
5,7-Dimethoxyflavanon- carbonsäure	4'	282,5 229	4,27 4,50	254	3,61
	3'	305	4,19	285	4,14
5,7-Dimethoxyflavon- carbonsäure		264,5 243	4,44 4,42	249 236,5	4,30 4,30
	4'	297,5 268	4,28 4,47	285 232	4,27 4,07
	3'	315 269,5	4,11 4,48	300 250	4,07 4,21
5,7-Dihydroxyflavon- carbonsäure	4'	(315) 273	4,15 4,46	236	3,99
	3'	347,5 306	4,19 4,01	320 291	3,95 3,99
3-Hydroxy-5,7-dimethoxyflavon- carbonsäure		252,5	4,25	247,5	4,23
	4'	356 307,5 252,5	4,22 4,08 4,23	325 292,5 247,5	4,98 4,05 4,22
	3'	-	-	-	-
		367,5	4,22	337,5	4,01
3,5,7-Trihydroxyflavon- carbonsäure	4'	310 271	4,14 4,25	291 245	4,11 4,14

Tabelle 5: Absorptions-Maxima und -Minima der UV-Spektren der Haupttypen flavonoider 3'- und 4'-Carbonsäuren in Methanol. () = Schulter

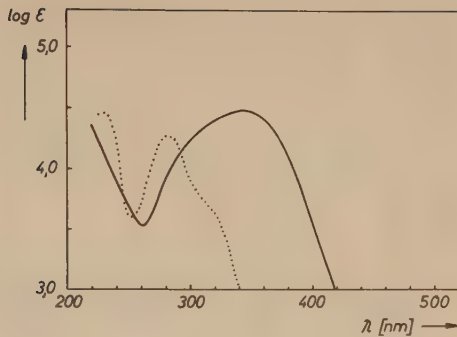


Abb. 13: UV-Spektrum von 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäure-4' (—) und 5,7-Dimethoxyflavanoncarbonsäure-4' (....) in Methanol

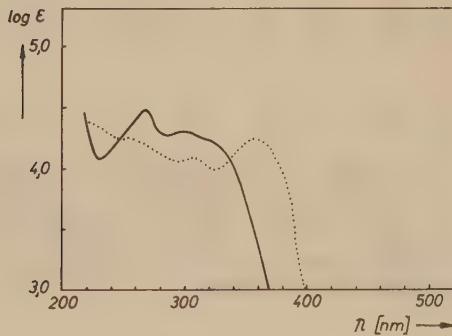


Abb. 14: UV-Spektrum von 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4' (—) und 3-Hydroxy-5,7-dimethoxyflavoncarbonsäure-4' (....) in Methanol

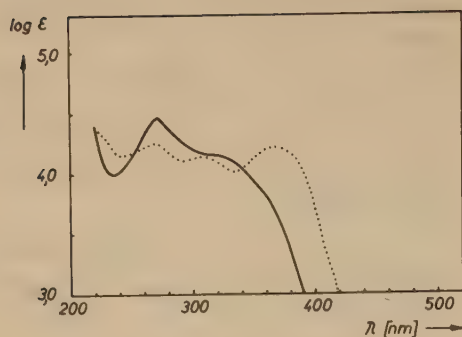


Abb. 15: UV-Spektrum von 5,7-Dihydroxyflavoncarbonsäure-4' (—) und 3,5,7-Trihydroxyflavoncarbonsäure-4' (····) in Methanol

Tabelle 6: (s. Seite 37) Absorptionsmaxima der IR-Spektren der Haupttypen flavonoider 3'-Carbonsäuren und 4'-Carbonsäuren in KBr. () = schwache Bande, — = breite Bande, ——— = breite Bande mit ausgeprägter Spitze

<u>Verbindung</u>	<u>Absorptionsmaxima (cm⁻¹)</u>				
2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxy- chalkoncarbonsäure	3	<u>2950</u>	(2670)	(2550)	1700 1635 1580 (1490)
	4	<u>2950</u>	(2670)	(2550)	1695 1625 1575 (1495)
5,7-Dimethoxyflavanon- carbonsäure	3'	<u>2950</u>	(2650)	(2595)	1720 (1640) 1615 1580
	4'	<u>2950</u>	(2610)	(2480)	1730 1650 1610 (1570)
5,7-Dimethoxyflavon- carbonsäure	3'	<u>2920</u>	(2590)	(2480)	1720 1645 1600 (1575)
	4'	<u>2880</u>	(2695)	(2560)	1715 1635 1600 (1590)
5,7-Dihydroxyflavon- carbonsäure	3' (3400)	<u>3100</u>		1665	1625 (1595)
	4'	<u>3540</u>	<u>3050</u>	1670	1620 (1590)
3'-Hydroxy-5,7-dimethoxy- flavoncarbonsäure	3'	<u>3300</u>	<u>3100</u>	1705	1620 (1575)
	4'	<u>3250</u>	2950	1715	1620 (1575)
3,5,7-Trihydroxyflavon- carbonsäure	3'	-		-	-
	4'	<u>3380</u>		1705 1665	(1630) 1610

Dünnschichtchromatographie der dargestellten Verbindungen

Als günstiges System zur Chromatographie der flavonoiden Carbonsäuren erwiesen sich Kieselgel-HF 254 als Sorbens und wassergesättigtes n-Butanol als Fließmittel. Mit diesem System gelang weitgehend die Auftrennung aller dargestellten Verbindungen. In Abb. 16 sind die Verhältnisse schematisch dargestellt:

- 1a) 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkon, 3-Carbonsäuremethylester und 4-Carbonsäuremethylester
- 1b) 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäure-3 und 4
- 2a) 5,7-Dimethoxyflavanon, 3'-Carbonsäuremethylester und 4'-Carbonsäuremethylester
- 2b) 5,7-Dimethoxyflavanoncarbonsäure-3' und -4'
- 3a) 5,7-Dimethoxyflavon, 3'-Carbonsäuremethylester und 4'-Carbonsäuremethylester
- 3b) 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-3' und -4'
- 4a) 5-Hydroxy-7-methoxyflavon, 3'-Carbonsäuremethylester und 4'-Carbonsäuremethylester
- 4b) 5-Hydroxy-7-methoxyflavoncarbonsäure-3' und -4'
- 5a) 5,7-Dihydroxyflavon, 3'-Carbonsäuremethylester und 4'-Carbonsäuremethylester
- 5b) 5,7-Dihydroxyflavoncarbonsäure-3' und -4'
- 6a) 3-Hydroxy-5,7-dimethoxyflavon, 3'-Carbonsäuremethylester und 4'-Carbonsäuremethylester
- 6b) 3-Hydroxy-5,7-dimethoxyflavoncarbonsäure-3' und -4'
- 7a) 3,5-Dihydroxy-7-methoxyflavon, 3'-Carbonsäuremethylester und 4'-Carbonsäuremethylester
- 7b) 3,5-Dihydroxy-7-methoxyflavoncarbonsäure-3' und -4'
- 8a) 3,5,7-Trihydroxyflavon, 3'-Carbonsäuremethylester und 4'-Carbonsäuremethylester
- 8b) 3,5,7-Trihydroxyflavoncarbonsäure-3' und -4'

Besonders ausgeprägt ist der Unterschied zwischen den R_f-Werten der Carbonsäuren und ihren Estern bzw. den decarboxylierten Verbindungen.

Eine Trennung der 3'- und 4'-Carbonsäuren sowie ihrer Ester gelang nicht. Die Ester und die decarboxylierten Verbindungen haben ebenfalls gleiche R_f-Werte.

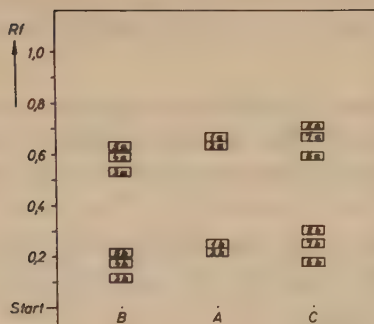


Abb. 16: Schematisches Dünnschichtchromatogramm (Kieselgel HF 254 - Merck, wassergesättigtes n-Butanol) der dargestellten Chalkone und Flavanone (A), Flavone (B) und Flavonole (C) (Erklärungen im Text)

Die Tatsache, daß einige Verbindungen gleiche Rf-Werte haben, wirkte sich bei ihrer Untersuchung darum nicht nachteilig aus, weil sie bei den Synthesen nicht nebeneinander auftraten.

Essigsäurezusatz zum Fließmittel bewirkte eine Vergrößerung der Rf-Werte, aber eine Verschlechterung der Trennung der Substanzen untereinander.

Zur Trennung der Flavonole mußten dem Sorbens 0,3 % Komplexon III zugesetzt werden, um so durch Bindung des im Kieselgel enthaltenen Eisens die starke Schwanzbildung durch Komplexbildung zu unterbinden.

Die Rf-Werte der Acetoxyflavone lagen zwischen denen der entsprechenden Hydroxy- und Methoxyverbindungen.

Detektion der Substanzflecke

1) Im UV-Licht bei 350 nm:

2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkone, 5-Hydroxy-7-methoxyflavone und 5,7-Dihydroxyflavone erscheinen als dunkle Absorptionsflecke.

5,7-Dimethoxyflavanone und 5,7-Dimethoxyflavone fluoreszieren bläulichweiß bzw. gelblichweiß.

3-Hydroxy-5,7-dimethoxyflavone, 3,5-Dihydroxy-7-methoxyflavone und 3,5,7-Trihydroxyflavone fluoreszieren gelb.

- 2) Mit alkoholischer Kalilauge werden alle Hydroxy- und Acetoxyflavone als intensiv gelbe Flecke erfaßt, 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkone und 5,7-Dimethoxyflavanone ebenfalls.
- 3) Mit salzsaurer Lösung von bisdiazotiertem Benzidin erscheinen nacheinander in der angegebenen Reihenfolge in folgenden Farben:
- | | |
|---------------------------------------|--------------|
| 1. 3,5,7-Trihydroxyflavone | rotviolett |
| 2. 3,5-Dihydroxy-7-methoxyflavone | orange |
| 3. 3-Hydroxy-5,7-dimethoxyflavone | orange |
| 4. 5,7-Dihydroxyflavone | intensiv rot |
| 5. 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkone | orange |
| 6. 5-Hydroxy-7-methoxyflavone | rosa |
- 4) Mit alkalischer Lösung von diazotierter Sulfanilsäure erscheinen alle Verbindungen mit freien Hydroxylgruppen als intensiv gelbe Flecke ohne Verzögerung.

Chromatographie der Derivate

Die Kondensationsprodukte der 5,7-Dimethoxyflavone mit Barbitursäure konnten ebenfalls mit dem beschriebenen System getrennt werden. Auch hier hatten die Ester wesentlich größere Rf-Werte als die freien Säuren.

Die 2,4-Dinitrophenylhydrazone der 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäuren (I), 5,7-Dimethoxyflavanoncarbonsäuren (II), 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäuren (III) und ihrer Ester (IV) konnten auf diese Weise nicht chromatographiert werden, da sie am Startpunkt zurückblieben. Als Grundlage eines geeigneten Fließmittels ebenfalls auf Kieselgel als Sorbens wurde Dioxan herangezogen: Mit Dioxan/Methanol 80:20 (v/v) blieben II, III und IV an Startpunkt zurück und I läuft mit kleinem Rf-Wert. Mit reinem Dioxan läuft anschließend IV mit kleinem Rf-Wert, II und III blieben am Startpunkt zurück und konnten nicht weiter getrennt werden.

Versuch zur Darstellung von Säurederivaten der 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4'

1) Säurechlorid

Auf Grund der sehr schlechten Löslichkeit der Flavoncarbonsäuren in inerten Lösungsmitteln schied eine Chlorierung mit PCl_3 und PCl_5 aus. Die Darstellung des Flavoncarbonsäurechlorids sollte darum mit SOCl_2 durchgeführt werden. Hierbei wurden aromatische Säurechloride durch direktes zweistündiges Kochen mit dem Reagenz in guten Ausbeuten dargestellt. Als Konkurrenzreaktion kommt der Austausch des Carbonylsauerstoffs unter Bildung von 4,4-Dichlorflavenen (30) in Frage. Dieser Austausch erfolgt auch bei Chromonen (31). Für eine quantitative Umsetzung ist allerdings zehnstündiges Kochen erforderlich. Wurde nun die 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4' mit SOCl_2 gekocht, so hatte sich nach 5 Minuten eine tiefrote Lösung gebildet, die nach 30 Minuten in einen schwarzen Teer umgewandelt war. In diesem Produkt konnten nur noch Spuren des Ausgangsproduktes nachgewiesen werden. Offensichtlich besteht ein großer Stabilitätsunterschied zwischen dem Grundkörper Flavon - der zehnstündiges Kochen mit SOCl_2 lediglich unter Ersatz der Carbonylgruppe übersteht (30) - und den sauerstoffreicheren Derivaten gegenüber dem Reagenz SOCl_2 . Dies Problem wurde anschließend untersucht, Quercetinpentamethyläther diente als Testsubstanz. Hierzu wurden 200 mg der Substanz in 4 ml Chloroform gelöst und mit 1 ml SOCl_2 versetzt. Die Lösungsmenge wurde halbiert, die eine Hälfte (Probe I) blieb 48 Stunden bei Zimmertemperatur stehen, die andere Hälfte (Probe II) wurde 30 Minuten auf dem Wasserbad unter Rückfluß erhitzt. Nach Entfernung des überschüssigen SOCl_2 wurden beide Proben chromatographisch untersucht: Probe I (nach Entfernung des SOCl_2 blaßgelb) enthielt lediglich das Ausgangsprodukt Quercetinpentamethyläther, Probe II (nach Entfernung des SOCl_2 rotviolett) bestand aus einer Vielzahl chromatographisch aufgetrennter Substanzen, Quercetinpentamethyläther konnte selbst in Spuren nicht mehr nachgewiesen werden. Hieraus mußte der Schluß gezogen werden, daß Flavone mit Ausnahme des Grundkörpers bei erhöhten Temperaturen von SOCl_2 zerstört werden. Bei Zim-

temperatur ist das Flavonsystem in Gegenwart von SOCl_2 beständig, auch wenn höher hydroxylierte Derivate vorliegen.

Versuche, Flavoncarbonsäurechlorid mit großen SOCl_2 -Überschüssen bei Zimmertemperatur darzustellen, scheiterten daran, daß die Carbonsäure in SOCl_2 selbst und in inerten Lösungsmitteln wie Benzol, Chloroform und Äther praktisch unlöslich ist. Auch der Versuch, die Reaktion mit Pyridin zu katalysieren (32) brachte keine Lösung des Problems, es wurde nur Ausgangsprodukt zurückgewonnen.

2) Säureanhydrid

Ausgangsstoffe für die Darstellung von Säureanhydriden sind üblicherweise Säuren und Säurechloride. Da die Darstellung von 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäurechlorid-4' nicht gelungen war, blieb noch die Möglichkeit offen, das Anhydrid aus der Säure in Konkurrenzreaktion mit Acetanhydrid zu gewinnen. Auf diese Weise konnten Robinson und Venkataraman (33) Anissäureanhydrid in guten Ausbeuten darstellen. Das Produkt, das hierbei mit 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4' erzielt wurde, war jedoch nicht das symmetrische Anhydrid, sondern das gemischte Anhydrid mit Essigsäure. Dies Ergebnis läßt sich leicht erklären, wenn man bedenkt, daß Robinson und Venkataraman Anissäure und Acetanhydrid im Verhältnis 1 : 3 umsetzen konnten, während die Flavoncarbonsäure mit Acetanhydrid im Verhältnis 1 : 40 in der Siedehitze eine gesättigte Lösung ergab.

3) Versuch zur direkten Darstellung vom Phenolester der 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4'

Abschließend sollte nun versucht werden, die Veresterung der 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4' mit o-Hydroxyacetophenon in Anlehnung an einen Literaturvorschlag (32) zu erzwingen. Die Autoren empfehlen, bei empfindlichen Säurechloriden, die durch pyridinkatalysierte Umsetzung mit SOCl_2 erhalten werden, diese nicht zu isolieren, sondern unter Zugabe eines weiteren Äquivalentes Pyridin sofort mit dem Reagenz (z.B. Alkohol oder Amin) weiterreagieren zu lassen.

Es wurde folgendermaßen verfahren: 10^{-3} Mol 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4' wurden in 3 ml Chloroform suspendiert

und mit 10^{-3} Mol SOCl_2 und 10^{-3} Mol Pyridin versetzt und dann 24 Stunden geschüttelt. Die tiefrote Suspension wurde darauf mit 10^{-3} Mol o-Hydroxyacetophenon und weiteren 10^{-3} Mol Pyridin versetzt und sollte anschließend weitere 24 Stunden geschüttelt werden. Schon nach wenigen Minuten konnte allerdings folgende Beobachtung gemacht werden: Die Suspension ging in eine Lösung über, und die Farbe schlug von tiefrot über oliv nach grün um. Nach ungefähr 15 Minuten war eine intensiv grüne Lösung entstanden. Die Reaktion konnte in den Lösungsmitteln Methylenchlorid und Dioxan reproduziert werden. Der Kontrollversuch mit SOCl_2 , Pyridin und o-Hydroxyacetophenon in Chloroform ohne Flavoncarbonsäure verlief negativ.

Untersuchung der Farbreaktion

Bei den ersten Versuchen, den grünen Farbstoff zu isolieren, stellte sich heraus, daß der Farbstoff Indikatoreigenschaft besitzt: Die Farbe ist im Sauren grün, im Alkalischen gelb-orange. Der Farbwechsel ist reversibel. Beim Einleiten von Chlorwasserstoff in Alkohol- und Chloroformlösungen und beim Auflösen des Farbstoffs in konzentrierter Schwefelsäure entstanden intensiv rote Lösungen, die beim Verdünnen mit Wasser nach grün umschlugen.

Das erste vorgereinigte Produkt, das noch Ausgangsflavon enthielt, wurde zunächst der qualitativen Elementaranalyse unterworfen: Die Substanz war frei von Chlor, Schwefel und Stickstoff, das Molekulargewicht betrug 540.

Das hohe Molekulargewicht des neuen Stoffes deutete darauf hin, daß die Flavoncarbonsäure mit dem Hydroxyacetophenon reagiert hatte. Darum wurde zunächst untersucht, ob die Reaktion an der Carboxylgruppe abläuft, obwohl dem Molekulargewicht nach zu urteilen eine einfache Veresterung nicht angenommen werden konnte (Mol.Gew. der Flavoncarbonsäure = 326, Mol.Gew. des Esters der Flavoncarbonsäure mit o-Hydroxyacetophenon = 444, Mol.Gew. des Farbstoffs = 540). Es wurde darum 5,7-Bimethoxyflavoncarbonsäure-4' durch 5,7-Dimethoxyflavon ersetzt. Unter den gleichen Bedingungen lief die Reaktion in gleicher Weise ab, es entstand eine intensiv grüne Lösung, die im alkalischen Milieu nach gelb-orange umschlug.

Die hier am Flavonsystem beobachtete Reaktion ist noch nicht beschrieben worden.

Es wurde darum versucht, diese Reaktion nach allen Seiten hin abzugrenzen, indem alle Substanzen und Reagenzien durch homologe Verbindungen ersetzt und ausgetauscht wurden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 zusammengefaßt.

Substanz

Reaktionsfähigkeit

1. Variation des Flavons

Flavon	++
5,7-Dimethoxyflavon	++
5,7-Dihydroxyflavon	-
5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4'	+
Flavonolmethylläther	-
Quercetinpentamethyläther	-
(Chromon)	-

2. Variation des Acetophenons

o-Hydroxyacetophenon	++
o-Chloracetophenon	(+)
Acetophenon	(+)
(Phenol)	-

3. Variation des Säurechlorids

Thionylchlorid	++
Oxalylchlorid	++

4. Variation der Base

Pyridin	++
Piperidin	+
Triäthylamin	+

5. Variation des Lösungsmittels

Methylenchlorid	++
Chloroform	++
Dioxan	+

Tabelle 7: Abhängigkeit der neuen Reaktion von den Ausgangsverbindungen, Reagenzien und Lösungsmitteln.

++ = starke Reaktion
 + = Reaktion
 (+) = schwache Reaktion
 - = keine Reaktion

Besonders wichtig war der Austausch von Pyridin gegen andere basische Verbindungen, denn unter Ringöffnung des Pyridins in Gegenwart acylierender Reagenzien könnte in das Molekül eine Polymethinkette eingebaut worden sein, die die Farbigkeit der Verbindung bedingt. Das Pyridin besitzt jedoch lediglich Basenfunktion, wie gezeigt werden konnte, allerdings war es den anderen verwendeten Basen vorzuziehen, da keine solzartigen Produkte ausfielen (Piperidin) und keine zusätzlichen Verfärbungen (Triäthylamin) auftraten. Methylenchlorid erwies sich als besonders geeignetes Lösungsmittel.

Bemerkenswert waren die Ergebnisse bei der Variation des Acetophenons. O-Hydroxyacetophenon reagierte bei Zimmertemperatur, Acetophenon nicht, so daß der Gedanke nahelag, die Reaktion verläuft über die Hydroxylgruppe. Zur genaueren Untersuchung des Problems wurde daher auch o-Chloracetophenon eingesetzt. Es trat keine Reaktion ein und damit schien die Annahme bestätigt. Trotzdem wurde auch der Einfluß höherer Temperaturen auf die Umsetzung untersucht. Zunächst wurden die Ansätze mit Acetophenon und o-Chloracetophenon auf dem Wasserbad unter Rückfluß erhitzt. Auch hierbei trat keine Reaktion ein. Anschließend wurde unter allmählichem Abdampfen des Lösungsmittels erhitzt. Als nur noch ein öliges Rückstand verblieben war, trat plötzlich unter intensiver Grünfärbung die Reaktion ein. Der Farbstoff hatte dieselbe Indikatoreigenschaft. Es wird später noch auf diese Methode eingegangen, die zur präparativen Darstellung der Produkte nicht herangezogen werden konnte, da bei kurzen Erhitzungszeiten die Ausbeute an Farbstoff sehr gering war, bei längerem Erhitzen die Ausbeute zwar stieg, aber gleichzeitig teerartige Nebenprodukte in größeren Mengen entstanden, deren Abtrennung nicht möglich war. Mit diesem Versuch war jedoch zunächst bewiesen, daß der primäre Angriff bei der Reaktion nicht an der Hydroxylgruppe des o-Hydroxyacetophenons erfolgt, daß diese Hydroxylgruppe aber für den glatten Reaktionsablauf von großer Bedeutung ist.

Bei der Variation des Flavonanteils war bemerkenswert, daß 3-Methoxyflavone nicht reagieren. Aus dem Ansatz mit Querc-

cetinpentamethyläther konnten 65% des Ausgangsproduktes in kristalliner Form zurückgewonnen werden. Diese Tatsache führte zu der Überlegung, daß der Angriff des Reagenz in 3-Stellung der Flavone erfolgen könnte. Hierauf wird später noch eingegangen. - Daß 5,7-Dihydroxyflavon unter gleichen Reaktionsbedingungen nicht reagierte, kann wohl auf die größere Empfindlichkeit von Polyhydroxyflavonen und damit auf das Auftreten von Nebenreaktionen zurückgeführt werden. Das Ergebnis wurde nicht weiter untersucht.

Zusammenfassung: Da die beschriebene neue Reaktion eine offensichtlich für Flavon und seine Methoxyderivate mit Ausnahme der 3-Methoxyverbindungen typische Reaktion ist, wurden die weiteren Untersuchungen nicht mehr mit 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4', sondern mit 5,7-Dimethoxyflavon durchgeführt. Diese Verbindung hat dem Grundkörper der Reihe - der auch zu der Reaktion befähigt ist - gegenüber den Vorteil, durch Methoxylgruppen zusätzlich analytische Daten zu liefern. Außerdem war eine Isolierung und Reinigung des entsprechenden neuen Reaktionsproduktes des Flavons nicht möglich. - Als Reagenzien wurden für die weiteren Modelluntersuchungen SOCl_2 und Pyridin und als Lösungsmittel Methylenchlorid verwendet.

Im weiteren Verlauf der Untersuchung der neuen Reaktion konnten eine Anzahl weiterer Verbindungen und Farbstoffe mit analogen Eigenschaften nachgewiesen und isoliert werden. Ihre Struktur blieb jedoch weitgehend ungeklärt. Eine Charakterisierung der Substanzen im Rahmen der chemischen Nomenklatur war aus diesem Grunde nicht möglich.

Zum leichteren Verständnis der folgenden Untersuchungen soll darum eine Übersicht über die Darstellung und Eigenschaften aller Verbindungen vorangestellt werden. Diese sind dabei in ein willkürliches Schema eingeordnet, mit dem in den folgenden Ausführungen eine rasche Orientierung möglich ist (s. Tabelle 8).

A Ausgangsverbindung 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4'

<u>Saures Milieu</u>		<u>Darstellung</u>	<u>Alkalisches Milieu</u>	
<u>Substanz</u>	<u>Farbe</u>		<u>Farbe</u>	<u>Substanz</u>
A ₁	orange	Als Nebenprodukt von A _{2a} nachgewiesen	orange	A ₁
A _{2a}	grün	5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4', o-Hydroxyacetophenon, SOCl ₂ , Pyridin in Chloroform	gelborange	A _{2b}
A _{3a}	rot	Erhitzen von A _{2a} in Acetanhydrid	gelb	A _{3b}
A _{4a}	blau	Als Nebenprodukt von A _{3b} nachgewiesen	gelb	A _{4b}

B Ausgangsverbindung 5,7-Dimethoxyflavon

B ₁	orange	Als Nebenprodukt von B _{2a} abgetrennt	orange	B ₁
B _{2a}	grün	5,7-Dimethoxyflavon, o-Hydroxyacetophenon, SOCl ₂ , Pyridin in Methylenchlorid	gelborange	B _{2b}
B _{3a}	rot	Erhitzen von B _{2b} in Methanol bzw. Aceton/Ligroin	gelb	B _{3b}
B _{4a}	blau	Als Nebenprodukt von B _{3b} abgetrennt	gelb	B _{4b}

Tabelle 8: Schema der dargestellten Farbstoffe.

Ausgangsverbindungen:

A = 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4'

B = 5,7-Dimethoxyflavon

Isolierung und Reinigung des Reaktionsproduktes B2b

Die ersten Isolierungs- und Reinigungsversuche waren an dem grünen Reaktionsprodukt A2a der 5,7-Dimethoxyflavoncarbon-säure-4' durchgeführt worden. Hierbei wurde der grüne Reaktionsansatz mehrfach mit 3%iger H_2SO_4 und anschließend mehrmals mit Wasser gewaschen. Die Chloroformphase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und dann mit Ligroin versetzt, um durch diese Umfällung die Hauptmenge des Überschusses von o-Hydroxyacetophenon - das dabei in Lösung bleibt - zu entfernen. Der teerartige Rückstand wurde dann in siedendem Methanol gerade gelöst. Beim Abkühlen schied sich ein grüner teeriger Niederschlag ab. Die dunkelgrüne Lösung wurde dekantiert und der Rückstand auf einen Tonteller aufgetragen. Nach 24 Stunden wurde das nun feste Produkt erneut aus Methanol umkristallisiert. Hierbei schied sich ein schmieriger kristalliner Rückstand ab, der nochmals auf Ton abgepreßt wurde. Nach erneuter Kristallisation entstand ein kristalliner, dunkelgrüner Rückstand, der abschließend nochmals aus Methanol umkristallisiert wurde.

Anschließend wurde ein neues chromatographisches System für den neuen Farbstoff gesucht. Unter Verwendung von Kieselgel als Sorbens zeigte sich, daß nur stark saure Fließmittel für die Entwicklung der Chromatogramme geeignet waren. Besonders gute Eigenschaften zeigte das Fließmittelsystem Chloroform, Essigester, Ameisensäure 50 : 40 : 10 (v/v/v). Es konnte für alle weiteren Untersuchungen zur Identitäts- und Reinheitsprüfung herangezogen werden. Besonders günstig war dabei die Tatsache, daß chemisch ähnliche Stoffe denselben R_f -Wert aufwiesen. So hatten alle untersuchten Methoxyflavone und -flavonele denselben R_f -Wert. Auch die aus ihnen gewonnenen unterschiedlichen Indikatorfarbstoffe hatten untereinander, aber deutlich getrennt von den Ausgangsflavonen, gleiche R_f -Werte. Unspezifische Verunreinigungen hatten R_f -Werte $< 0,5$. Die Indikatorfarbstoffe liegen im R_f -Bereich 0,5 - 0,6, die Ausgangsflavone bei R_f 0,75. An der Fließmittelfront wurde bei allen Reaktionsansätzen ein scharfer gelber Fleck beobachtet, der später in die Un-

tersuchungen mit einbezogen wurde. - Wird im weiteren Verlauf der Arbeit von chromatographischer Untersuchung gesprochen, so handelt es sich immer um das hier behandelte System.

Bei der Reinigung des grünen Reaktionsproduktes des 5,7-Dimethoxyflavon B2a wurde wie bei der 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4' verfahren. Es entstanden jedoch nur grüne, teerige Rückstände. Auch nach mehrfacher Umfällung mit Ligroin konnte auf diesem Wege kein festes Produkt erhalten werden. Darum wurde versucht, den Farbstoff in der Form B2b (gelborange) zu isolieren und zu reinigen. Hierzu wurde die grüne Methylenchloridlösung in einem Scheidetrichter mit der gleichen Menge Wasser versetzt. Dann wurde jeweils unter Zugabe eines Tropfens 10%igem Ammoniaks solange geschüttelt, bis die grüne Farbe nach gelb-orange umgeschlagen war. Anschließend wurde wieder über Na_2SO_4 getrocknet und dann das Lösungsmittel abgedampft. Der Rückstand wurde dann in Analogie zur ersten Aufarbeitungsmethode in siedendem Methanol gerade gelöst. Beim Abkühlen schied sich an der Gefäßwand eine orange gefärbte feste Substanz ab. Die Lösung wurde dekantiert und der Rückstand erneut aus Methanol umkristallisiert. Die Substanz hatte keinen Schmelzpunkt, sie zersetzte sich allmählich oberhalb 200° . Bei der chromatographischen Untersuchung ergab sich, daß der grüne Farbstoff den gleichen R_f -Wert besitzt, wie das grüne Reaktionsprodukt der 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4' A2a. An der Fließmittelfront wurde ebenfalls ein gelber Fleck beobachtet.

Beim Vergleich der IR-Spektren des grünen Farbstoffs A2a der 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4' und des orange-gelben Farbstoffs B2b des 5,7-Dimethoxyflavons zeigte sich eine bemerkenswerte Übereinstimmung im Bereich von $1550 - 1650 \text{ cm}^{-1}$ (Abb. 17).

Das Molekulargewicht des orange-gelben Farbstoffes B2b betrug 574.

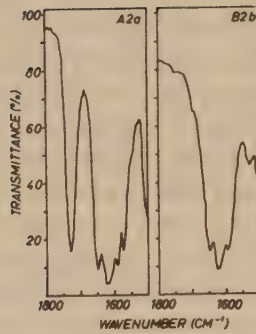


Abb. 17: Vergleich der IR-Spektren von A2a und B2b im Bereich von 1550 - 1650 cm^{-1} (in KBr).

Umwandlung des Reaktionsproduktes B2b und Isolierung der Folgeprodukte

Als bei dem grünen Reaktionsprodukt A2a der 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4' der Versuch gemacht wurde, die Substanz in Acetanhydrid zu lösen, schlug am Siedepunkt (139°) die grüne Farbe plötzlich nach rot um. Bei der Reaktion sollte die Verbindung auf acylierbare Funktionen untersucht werden. Die rote Lösung wurde mit Methanol verdünnt und dann mit Ammoniak versetzt. Im alkalischen Bereich schlug dabei die Farbe nach blaßgelb um. Beim Ansäuern trat die rote Farbe wieder auf. Da die Indikatoreigenschaft des Farbstoffs erhalten geblieben war, wurde versucht, den roten Farbstoff zu isolieren. Durch zahlreiche Umfällungen (Methylenchlorid/Ligroin und Aceton/Ligroin) und Abtrennung von teerigen Fraktionen ohne Indikationseigenschaft wurde der Farbstoff angereichert. Die Untersuchung der Indikatoreigenschaft war hierbei der Leitfaden. Die angereicherte Fraktion wurde dann durch weitere Fällungen in zwei Farbstoffe aufgetrennt, und zwar in einen roten (A3a) und in einen gelben (A3b) Stoff. Der rote Stoff schlug im alkalischen Bereich nach blaßgelb um und wurde beim Ansäuern wieder rot, der gelbe Stoff schlug im sauren Bereich nach rot um und wurde beim Alkalisieren wieder gelb. Es wurde darum angenommen, daß es sich hier um zwei Formen ein und derselben Verbindung handelt. Beide Farbstoffe hatten bei der chromatographischen Untersuchung denselben Rf-Wert, dieser war außerdem identisch mit dem der grünen Ausgangsverbindung. Die beiden neuen Stoffe A3a und A3b unterschieden sich allerdings stark in ihren IR-Spektren (Abb. 18), besonders zwischen 1600 und 1650 cm^{-1} , während der grüne Ausgangsstoff in diesem Bereich sowohl in der Form A2a als auch in der Form A2b übereinstimmte. Die Mengen der gewonnenen Farbstoffe betrugen nur je etwa 3 mg, während die Menge des Ausgangsproduktes 500 mg betrug. Der Ausgangsstoff war quantitativ umgewandelt, die Hauptmenge der Folgeprodukte bestand aus teerigen Stoffen ohne Indikatoreigenschaft.

Bei dem Versuch, das Reaktionsprodukt des 5,7-Dimethoxy-

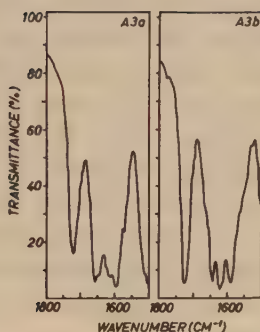


Abb. 18: Vergleich der IR-Spektren von A3a und A3b im Bereich von 1600 - 1650 cm^{-1} (in KBr)

flavons in der Form B2b (gelb-orange) aus Methanol umzukristallisieren, konnte die Beobachtung gemacht werden, daß die über dem orange gefärbten Bodenkörper stehende Lösung von dunkelroter Farbe war. Das änderte sich auch nicht nach mehrfachem Umkristallisieren. Während sich der Bodenkörper beim Ansäuern grün färbte, vertiefte sich dabei die rote Farbe der überstehenden Lösung. Wurden beide Lösungen chromatographiert, so entstanden ein grüner und ein roter Fleck mit gleichem Rf-Wert. Auch die grünen und roten Farbstoffe der 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4' A2a und A3a zeigten untereinander und mit denen aus 5,7-Dimethoxyflavon gebildeten Substanzen B2a und B3a gleiche Rf-Werte.

Die Tatsache, daß der Farbstoff B2b weiteren Reaktionen unterliegt, führte zu dem Ergebnis, daß eine Reinigung durch

Kristallisation oder Fällung aus heißen Alkoholen nicht möglich ist. Es wurde für diese Substanz (B2b) ein anderes Reinigungungsverfahren benötigt, das in einem der folgenden Abschnitte beschrieben wird. Gleichzeitig bot sich hier aber die Möglichkeit, durch wesentlich höhere Ausbeuten (gegenüber dem Erhitzen mit Acetanhydrid) eine größere Menge des roten Farbstoffs B3a zu gewinnen.

Hierzu wurden die vereinigten methanolischen Mutterlaugen weitere 30 Minuten unter Rückfluß erhitzt, der Methylalkohol abgedampft, der Rückstand mit Aceton aufgenommen und mit Ligroin versetzt. Hierbei entstanden ein intensiv rotes Pulver und eine braune Lösung. Beim Eindampfen der Lösung fiel ein braunes Pulver aus, das kaum noch Indikatoreigenschaften besaß, also nur noch Reste des roten Farbstoffs enthalten konnte. Das rote Pulver löste sich sehr gut in Chloroform, in Tetrachlorkohlenstoff jedoch kaum. Darum wurde der Farbstoff aus einer Chloroformlösung mit Tetrachlorkohlenstoff fraktioniert gefällt. Die chromatographisch reinen Fraktionen besitzen keinen Schmelzpunkt, oberhalb von 200° zersetzen sie sich allmählich.

Das IR-Spektrum stimmt zwischen 1600 und 1650 cm^{-1} mit dem des roten Farbstoffs A3a, der aus 5,7-Dimethoxyflavoncarbon-säure-4' in kleinen Mengen gewonnen werden konnte, überein. (s. Abb. 19)

Das Molekulargewicht betrug $1258 - 1280$.

Alkalispaltung (34) und anschließende chromatographische Untersuchung (35) ergab für die Verbindung Phloroglucin, Benzoessäure und Salicylsäure. Hier konnten erstmals in einem der Reaktionsprodukte - und nicht nur auf Grund hoher Molekulargewichte - die Elemente der Ausgangsprodukte 5,7-Dimethoxyflavon und o-Hydroxyacetophenon nachgewiesen werden.

Auch der analoge gelbe Farbstoff B3b konnte erhalten werden. Hierzu wurde der Ausgangsstoff B2b in wenig Aceton gelöst, mit viel Ligroin versetzt und 24 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Es entstand an der Gefäßwand ein roter Film, der mit gelben Kristallen durchsetzt war. Die überstehende

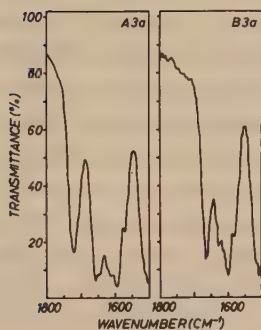


Abb. 19: Vergleich der IR-Spektren von A3a und B3a
im Bereich von 160 - 1650 cm^{-1} (in KBr)

gelbe Lösung wurde abgegossen, die Ausscheidung von der Gefäßwand gekratzt und dieser Rückstand portionsweise mit wenig Aceton gewaschen, bis sich die Waschflüssigkeit nicht mehr rot färbte. Es blieb ein gelbes Pulver zurück, das keinen Schmelzpunkt besitzt, sich aber oberhalb 200° allmählich zersetzt. Die Substanz hat in dem Standardsystem denselben Rf-Wert wie der rote Farbstoff.

Untersuchung der Umwandlung des primären Reaktionsproduktes B2b

Die Umwandlung des grünen Farbstoffs B2b in den roten B3a erfolgte beim Erhitzen mit Acetanhydrid augenblicklich, mit Methanol allmählich. Bei Parallelversuchen mit anderen Lösungsmitteln wurden folgende Beobachtungen gemacht: Auch bei mehrstündigem Erhitzen in Aceton trat nur eine geringe Intensitätsabnahme des grünen Farbstoffs ein, ebenso nach mehrstündigem Erhitzen in Chloroform. Nach zehnstündigem Kochen in Methylenchlorid konnte überhaupt keine Veränderung beobachtet werden. Aus diesen Untersuchungen wurde der Schluß gezogen, daß die Umwandlung nicht durch Reaktion mit dem Lösungsmittel erfolgt, sondern lediglich abhängig ist von der Siedetemperatur und der Polarität des Lösungsmittels. Die Vermutung, daß es sich hierbei um eine thermische Umwandlung handeln könnte, wurde auch gestützt durch eine Beobachtung bei der Schmelzpunktbestimmung, wobei sich die Substanz B2b oberhalb 100° rot färbte. Das Problem wurde genau untersucht.

Eine stets gleichgroße Menge des aus 5,7-Dimethoxyflavon gewonnenen Farbstoffs B2b (gelb-orange) wurde in der gleichen Menge verschiedener Lösungsmittel gelöst und anschließend unter Rückfluß gekocht. Nach jeweils 30 Minuten wurde eine kleine Menge der Lösung entnommen und durch Ansäuern mit Ameisensäure ermittelt, ob noch Grünfärbung auftrat: $B2b + \text{Säure} = B2a$ (grün). Auch wenn viel roter Farbstoff neben wenig grünem Farbstoff in einer Lösung enthalten ist und umgekehrt, entsteht keine rein rot oder grün, sondern eine oliv gefärbte Lösung. So konnte festgestellt werden, ob B2b quantitativ in B3a überführt war.

Die Ergebnisse sind in einer Tabelle zusammengefaßt (s. Tabelle 9).

Die Tabelle bestätigt im wesentlichen die zuvor aufgestellte Vermutung. Aus der ermittelten Reihe fällt lediglich die Essigsäure heraus. Es wurde darum angenommen, daß der Farbstoff B2b in saurer Lösung - also in seiner grünen Form B2a - thermisch wesentlich stabiler ist.

Lösungsmittel	Siedepunkt (°C)	Erhitzungsdauer	Umwandlung
Methylenchlorid	40°	10 Stunden	-
Aceton	56°	10 "	+
Chloroform	61°	10 "	++
Methanol	65°	2 "	+++
Chloroform/Tetra- chlorkohlenstoff	(Temperatur i.d.Lösung 65°)	5 "	++
Tetrachlorkohlen- stoff	77°	4 "	+++
Äthanol	78°	0,5 "	+++
Eisessig	118°	3 "	-
Acetanhydrid	139°	2-3 Sekunden	+++

Tabelle 9: Untersuchung der Umwandlung von B2b in B3a in Abhängigkeit vom Siedepunkt und der Polarität verschiedener Lösungsmittel (- keine Umwandlung, + geringfügige, ++ nicht vollständige und +++ vollständige Umwandlung)

Zur Untersuchung dieser Annahme wurden die in der Tabelle aufgeführten Lösungen mit 1% Ameisensäure versetzt und unter gleichen Bedingungen erhitzt. In den vorher ermittelten Zeiten trat praktisch keine Veränderung ein und auch nach Verdopplung und Verdreifachung der Erhitzungsdauer erfolgte in keinem Fall quantitative Umwandlung. Nur in Acetanhydrid wurde B2b quantitativ umgewandelt. Aber auch hier war eine Erhitzungsdauer von 30 Sekunden gegenüber 2-3 Sekunden ohne Säurezusatz erforderlich.

Abschließend wurde untersucht, ob die Umwandlung durch Oxydation mit Luftsauerstoff erfolgt. Als besonders geeignetes Lösungsmittel wurde Äthanol verwendet (s. Tabelle 9) und die Lösung unter Stickstoff und unter Sauerstoff unter Rückfluß erhitzt. In beiden Fällen wurden 30 Minuten für die quantitative Umwandlung benötigt, dieselbe Zeit kann auch der Tabelle entnommen werden. Damit war bewiesen, daß die Umwandlung des grünen in den roten Farbstoff keine Oxydation und keine Reaktion mit dem Lösungsmittel ist,

sondern allein eine thermische Reaktion, die in saurem Milieu gehemmt oder verhindert wird.

Beobachtung eines weiteren Farbstoffes unter den Umwandlungsprodukten A3b und B3b

Die beiden gelben Farbstoffe A3b und B3b schienen ihrem Farbwechsel entsprechend die korrespondierenden Formen der beiden roten Farbstoffe A3a und B3a zu sein. Auffallend war jedoch der Unterschied der IR-Spektren im Bereich von $1600 - 1650 \text{ cm}^{-1}$. Als bei den gelben Indikatorfarbstoffen Umschlagsversuche mit Ameisensäure in verschiedenen Lösungsmitteln durchgeführt wurden, wurde ein neues Phänomen beobachtet: In Methanol erfolgte der Umschlag in bekannter Weise von gelb nach rot, die angesäuerte Chloroformlösung jedoch sah in der Aufsicht blau, in der Durchsicht blau-rot changierend aus. Diese Erscheinung trat sowohl bei A3b als auch bei B3b auf. Das optische Verhalten wurde auch durch photometrische Messung kontrolliert: (s. Abb. 20). Die in Methanol aufgenommene Kurve zeigt ein ausgeprägtes Maximum bei 515 nm und ein Maximum geringer Extinktion bei 610 nm. Die in Chloroform aufgenommene Kurve hat ein stark ausgeprägtes Maximum bei 610 nm und eine Nebenbande geringerer Extinktion bei 525 nm.

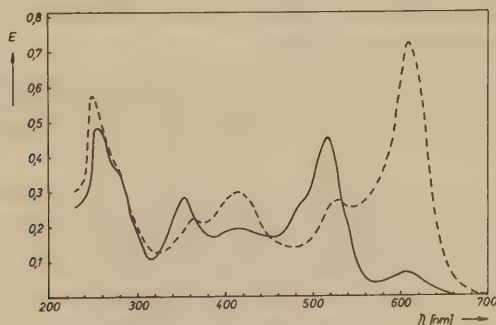


Abb. 20: Elektronenspektrum von B3b in Methanol (————) und in Chloroform (-----) nach Zusatz von 1% Ameisensäure

Bei der chromatographischen Untersuchung der blau-rot changierenden Chloroformlösung konnte tatsächlich eine teil-

weise Trennung in einen roten und einen blauen Fleck erzielt werden. Der rote Fleck hatte den gleichen Rf-Wert wie der grüne (B2a) und der rote (B3a) Farbstoff. Der Rf-Wert des blauen Farbstoffs B4a war etwas größer, die Trennung war nicht vollständig. Es wurde nun versucht, den blauen Farbstoff anzureichern und abzutrennen. Dazu wurde die mit Ameisensäure angesäuerte Chloroformlösung der Substanz B3b fraktioniert mit Ligroin gefällt. Die mittlere Fraktion wurde verworfen, die erste und die letzte Fraktion wurden erneut aus Chloroformlösung mit Ligroin umgefällt. Von beiden Substanzen wurden IR-Spektren angefertigt. Ihre Auswertung ergab einen wichtigen Befund: Beide Spektren unterschieden sich im Bereich zwischen 1600 und 1650 cm^{-1} untereinander und von dem Spektrum der gelben Ausgangssubstanz B3b (s. Abb. 21).

Das Spektrum der dritten und größeren Fraktion - die sich in Chloroform mit roter Farbe löst - ist identisch mit dem des roten Farbstoffs B3a.

Das Spektrum der Vorfraktion - die sich in Chloroform mit blauer Farbe löst - addiert mit dem Spektrum der Nachfällung ergibt im Bereich von 1600 - 1650 cm^{-1} das Spektrum der gelben Ausgangsverbindung (s. Abb. 21). Hieraus mußte der Schluß gezogen werden, daß der gelbe Farbstoff B3b keine einheitliche Verbindung ist.

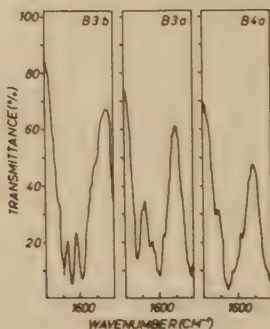


Abb. 21: Vergleich der IR-Spektren von B3b und B3a sowie B4a im Bereich von 1600 - 1650 cm^{-1} (in KBr)

Bei der fraktionierten Fällung gelang es nicht, den blauen Farbstoff B4a völlig rein zu gewinnen. Das konnte photometrisch gemessen werden. Das UV-Spektrum (s. Abb. 22) zeigt ein Kurvenpaar mit geringen Extinktionen (A) und ein Kurvenpaar mit ausgeprägten Maxima (B). Das erste Kurvenpaar zeigt die Lichtabsorption der blauen neutralen Chloroformlösung (Maximum bei 600 nm) und der violetten neutralen Methanol-lösung (breites Maximum bei 550 nm). Beim Ansäuern der Lösungen entstehen fast deckungsgleiche Absorptionsbanden hoher Extinktion mit Maxima bei 595 bzw. 600 nm und einer Inflektion bei 550 nm als Zeichen der Anwesenheit von B3a neben B4a. Beide Lösungen sind intensiv blau.

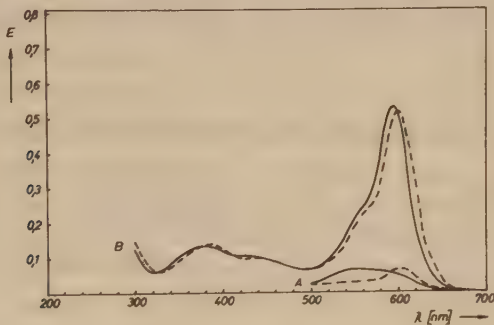


Abb. 22: Elektronenspektrum von B4a in Methanol (——) und in Chloroform (-----), A in neutraler Lösung, B nach Zusatz von 1% Ameisensäure

Der blaue Farbstoff konnte stets in neugebildetem gelben B3b nachgewiesen werden. Als Ausgangsstoff diente hierzu der rote Farbstoff B3a, in dem der blaue Farbstoff noch nicht nachzuweisen war. Kocht man das fein pulverisierte Pigment längere Zeit mit Ligroin, so erhält man über dem roten Bodenkörper eine gelbe Lösung. Wird das Lösungsmittel abgedampft und ein Teil des gelben Rückstandes in Methanol und ein anderer in Chloroform aufgenommen und beide Lösungen mit Ameisensäure angesäuert, so entstehen eine rote Methanollösung und eine blau-rot changierende Chloroformlösung. Bei Anwesenheit des roten und blauen Farbstoffes nebeneinander überwiegt in polaren Lösungsmitteln die Rotfärbung, in un-

polaren Lösungsmitteln die Blaufärbung. Photometrisch können große Konzentrationsunterschiede beider Farbstoffe nebeneinander nachgewiesen werden.

Die Untersuchungen führten zu folgendem Ergebnis: Das primäre grüne Reaktionsprodukt B2a und sein rotes Umwandlungsprodukt B3a sind in saurem Milieu stabil, in alkalischem und neutralem Milieu erfahren sie Umwandlungen zu weiteren Farbstoffen mit Indikatoreigenschaft. So entsteht aus dem grünen (B2a) ein roter (B3a) und aus diesem ein blauer Farbstoff (B4a). Entsprechendes gilt für die Farbstoffe A2a, A3a und A4a.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 10 zusammengestellt. Aus ihr geht hervor, welche Farbstoffe isoliert und gereinigt wurden und welche lediglich durch analoges Verhalten nachgewiesen wurden.

A. 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4'

Farbstoff im sauren Milieu (stabil)	isoliert als	Farbstoff im alkalischen Milieu (instabil)	isoliert als
grün	A2a	gelb-orange	nicht isoliert
↓			
rot	A3a	gelb	A3b
↓			
blau	nicht isoliert	gelb	nicht isoliert

B. 5,7-Dimethoxyflavon

grün	nicht isoliert	gelb-orange	B2b
↓			
rot	B3a	gelb	B3b
↓			
blau	B4a	gelb	nicht isoliert

Tabelle 10: Umwandlungsschema der Farbstoffe

Versuche zur Reindarstellung des primären Reaktionsproduktes B2b aus 5,7-Dimethoxyflavon und o-Hydroxyacetophenon und Isolierung eines weiteren Reaktionsproduktes B1

Bei den bisherigen Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß das Reaktionsprodukt in seiner grünen Form B2a nicht in einen festen Stoff überführt werden konnte und daß die Substanz in der gelb-orange gefärbten Form B2b thermolabil ist und in andere Farbstoffe umgewandelt wird. Darum wurde ein Weg gesucht, durch Kombination geeigneter Lösungsmittel bei tiefen Temperaturen eine Reinigung des Rohproduktes zu erzielen.

Das gelb-orange gefärbte Rohprodukt löst sich ausgezeichnet in kaltem Aceton und weniger gut in kaltem Methanol.

Die als Verunreinigungen hauptsächlich in Frage kommenden Stoffe 5,7-Dimethoxyflavon und Reste o-Hydroxyacetophenon sind in beiden Lösungsmitteln auch in der Kälte gut löslich.

Es wurde darum so verfahren, daß das Rohprodukt B2b in wenig Aceton kalt gelöst und dann mit der zwanzigfachen Menge Methanol versetzt wurde. Diese Lösung war völlig klar und wurde anschließend an einem Vakuumumlaufverdampfer allmählich eingeengt. Der Kolben bewegte sich dabei in der Luft und wurde von Zeit zu Zeit mit wenig Wasser betropft. Die Verdunstungswärme bewirkte dabei eine allmähliche Abkühlung der Lösung und die Bildung eines Eisansatzes an der äußeren Gefäßwand. Nach einiger Zeit trübte sich die Lösung. Von hier an wurde das ausgefallene Produkt mehrfach abgesaugt, bis die Lösung auf die Hälfte eingeengt war. In dieser Weise wurde mit der ausgefällten Substanz dreimal verfahren. Die Menge an derart gereinigter Substanz, bezogen auf das Rohprodukt war naturgemäß gering. Chromatographisch konnte jedoch nachgewiesen werden, daß der Farbstoff praktisch frei von 5,7-Dimethoxyflavon war. Das IR-Spektrum (Abb. 23, mittleres Spektrum) zeigte im Bereich zwischen 1600 und 1650 cm^{-1} eine wesentliche Veränderung gegenüber den IR-Spektren (s. Abb. 17), die bisher als charakteristisch für diesen Substanztyp angesehen worden waren. Die beiden Banden

bei 1600 und 1650 cm^{-1} sind nur noch andeutungsweise vorhanden. Da diese Signale aber auch den roten Umwandlungsprodukten A3a und B3a zuzuordnen sind, konnte geschlossen werden, daß bei der schonenden Reinigungsmethode die Umwandlung weitestgehend unterdrückt werden konnte. Die IR-Spektren in Abb. 17 sind also Mischspektren des primären grünen Farbstoffs B2a bzw. B2b und seines roten Folgeproduktes B3a.

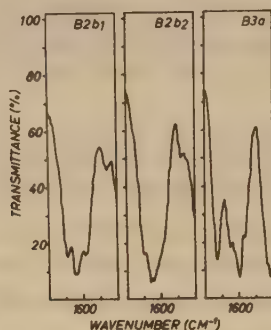


Abb. 23: Vergleich der IR-Spektren von B2b₁ (mit heißem Methanol behandelt), B2b₂ (mit kaltem Methanol behandelt) und B3a im Bereich von $1600 - 1650\text{ cm}^{-1}$ (in KBr)

Die Molgewichte des so gereinigten Farbstoffs B2b lagen für mehrere gleichartig behandelte Proben zwischen 553 und 559. Auch hier ergab die Alkalispaltung Phloroglucin, Benzoesäure und Salicylsäure.

Die chromatographische Untersuchung zeigte, daß an der Fließmittelfront immer noch ein schmaler gelber Fleck vorhanden war, der stets bei der Chromatographie der grünen Rohprodukte aller eingesetzter Flavone und Acetophenone beobachtet werden konnte, wie schon berichtet wurde. Beim Besprühen mit Eisen(III)-chloridlösung entsteht eine Blaufärbung.

Beim Auflösen des Rohproduktes in Aceton für die beschriebene Reinigung des Farbstoffs B2b mit Methanol bei Zimmertemperatur fiel in zwei Ansätzen ein recht bedeutender schwerlöslicher orange gefärbter Rückstand an, der in Chloroform gut löslich war. Bei der chromatographischen Untersuchung

lief diese Substanz an der Fließmittelfront als scharfer gelber Fleck, der sich mit Eisen(III)-chlorid blau färbte.

Die Substanz wurde aus Tetrachlorkohlenstoff umkristallisiert, sie hatte einen scharfen Schmelzpunkt von 203° und gab in verdünnter Aceton- oder Methanollösung eine intensive Blaufärbung mit Eisen(III)-chlorid. Das Molekulargewicht der Verbindung, die keine Indikatoreigenschaft besaß, betrug 410. Die Alkalispaltung ergab auch für dies Produkt Phloroglucin, Benzoesäure und Salicylsäure als Elemente der Ausgangsstoffe 5,7-Dimethoxyflavon und o-Hydroxyacetophenon. Das IR-Spektrum (s. Abb. 28) ist zwischen 1600 und 1650 cm^{-1} identisch mit dem IR-Spektrum von 5,7-Dimethoxyflavon (s. Abb. 29), das UV-Spektrum (s. Abb. 24) zeigt allerdings keine Ähnlichkeit mit dem Chrysinpektrum. In Fortsetzung der bisher gewählten Bezeichnung nannten wir die Substanz Bl.

Es konnte nicht geklärt werden, weshalb nur in zwei Fällen - von zahlreichen durchgeführten Ansätzen - größere Mengen des Stoffes auftraten. Auch durch Variation der Mengen der Reaktionsteilnehmer konnte die Ausbeute nicht gesteigert werden, chromatographisch konnte seine Anwesenheit stets nachgewiesen werden.

Die Lösungseigenschaften des Nebenproduktes erklären, weshalb seine vollständige Abtrennung vom Hauptprodukt auf die beschriebene schonende Weise nicht möglich war. Das hohe Molekulargewicht von Bl und das Ergebnis der Alkalispaltung deuteten die Notwendigkeit an, auch diese Verbindung in die weitere Untersuchung der Reaktion mit einzubeziehen, obgleich keine Indikatoreigenschaft vorhanden ist. Von großem Nachteil war jedoch, daß die Darstellung der Substanz in größeren Mengen nicht reproduzierbar war, und so nur wenig Untersuchungsmaterial zur Verfügung stand.

Zusammenfassung: Bei dem Versuch, den Phenolester der 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure mit o-Hydroxyacetophenon in einer Einschrittreaktion herzustellen, wurde ein intensiv grüner Farbstoff gebildet, der Indikatoreigenschaft besitzt. Es konnte festgestellt werden, daß diese Reaktion unab hängig von der Karboxylgruppe abläuft und daß 3-Methoxyflavone nicht

reagieren. Ausgehend von 5,7-Dimethoxyflavon konnten das grüne Hauptprodukt mit Indikatoreigenschaft B2b, das orange gefärbte Nebenprodukt ohne Indikatoreigenschaft B1 und das rote Umwandlungsprodukt des grünen Hauptproduktes mit Indikatoreigenschaft B3a isoliert und weitgehend gereinigt werden. Alle drei Stoffe hatten hohe Molekulargewichte und ergaben bei der Alkalispaltung Phloroglucin, Benzoesäure und Salicylsäure als Elemente des Flavon- und Acetophenonanteils.

Die Analytischen Daten dieser drei Reaktionsprodukte sowie ihre Elektronen- und IR-Spektren sind in Tabelle 11 und den folgenden Abbildungen zusammengestellt.

Bezeichnung	Farbe		Fp	Mol.Gew.	C	H	OCH ₃
	Farb-Umschlag						
B1	orange		303 ⁰	406-410	74,92%	4,98%	9,38%
B2b	grün-gelb-orange		200 ⁰ Zers.	553-559	72,80%	5,11%	14,56%
B3a	rot-gelb		200 ⁰ Zers.	1258-1280	61,51%	4,10%	9,55%

Tabelle 11: Zusammenstellung der analytischen Daten der drei isolierten Farbstoffe B1, B2b und B3a

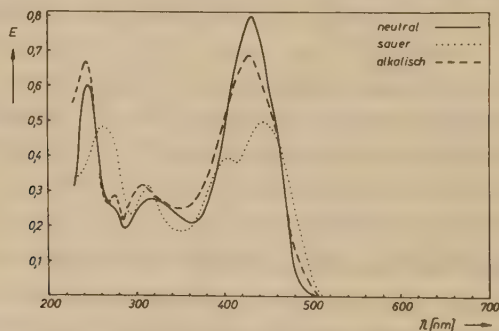


Abb. 24: Elektronenspektrum von B1 in neutraler, saurer (Zugabe von 1% Ameisensäure) und alkalischer (Zugabe von 1% Natriumalkoholat) Chloroformlösung

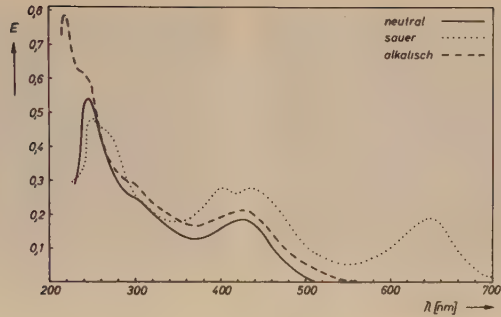


Abb. 25: Elektronenspektrum von B2b in neutraler und alkalischer (Zugabe von 1% Natriumalkoholat) Chloroformlösung. Bei Zugabe von 1% Ameisensäure entsteht B2a

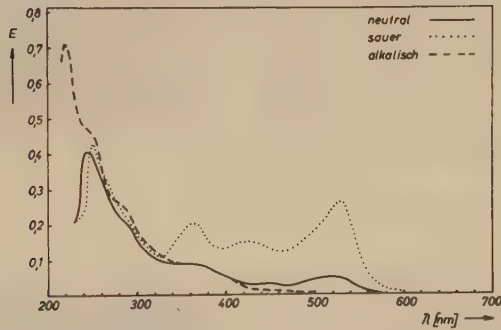


Abb. 26: Elektronenspektrum von B3a in neutraler und saurer (Zugabe von 1% Ameisensäure) Chloroformlösung. Bei Zugabe von 1% Natriumalkoholat entsteht B3b

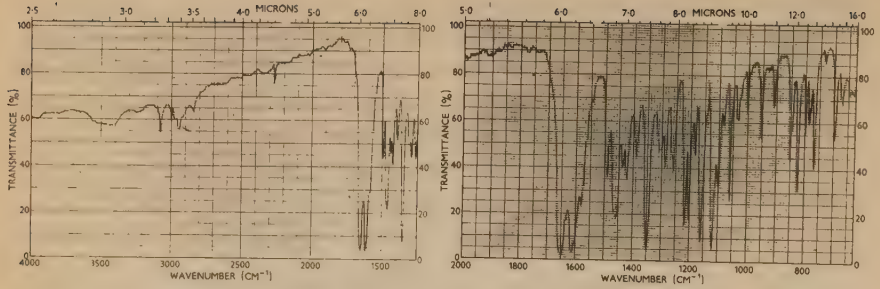


Abb. 27: IR-Spektrum von 5,7-Dimethoxyflavon in KBr

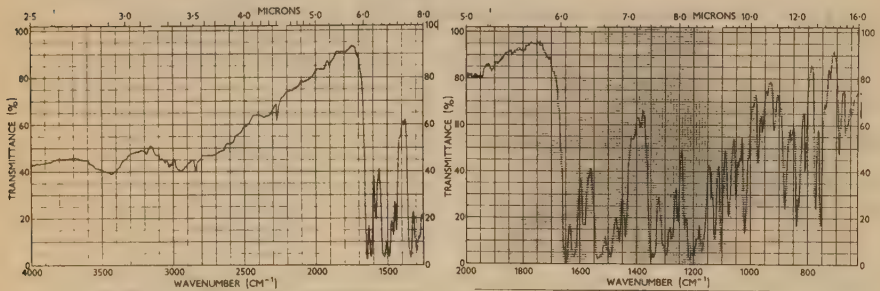


Abb. 28: IR-Spektrum von B1 in KBr

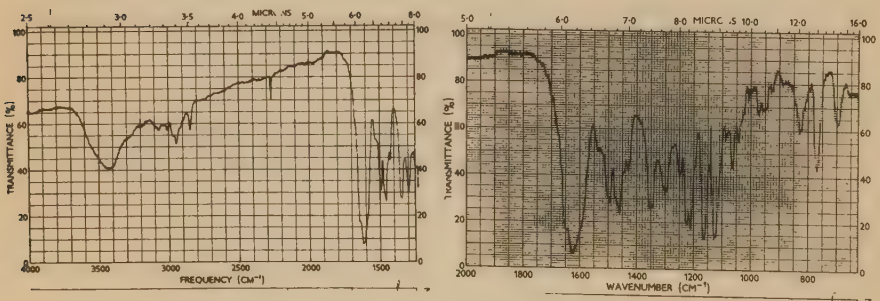


Abb. 29: IR-Spektrum von B2b in KBr

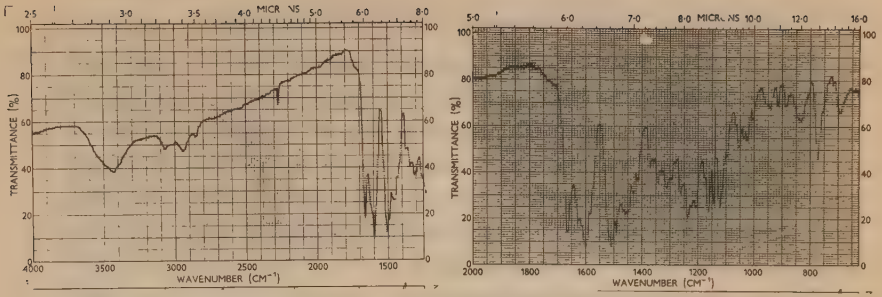


Abb. 30: IR-Spektrum von B3a in KBr

Untersuchung der Struktur der Reaktionsprodukte

Durch Alkalispaltung konnte gezeigt werden, daß o-Hydroxyacetophenon in alle Verbindungen eingetreten ist. Betrachtet man unter diesem Gesichtspunkt die Molekulargewichte der drei gereinigten Verbindungen, so könnte B1 durch Reaktion von 1 Mol 5,7-Dimethoxyflavon und 1 Mol o-Hydroxyacetophenon gebildet worden sein (Ber. Mol.Gew. 418, gef. Mol.Gew. 406-410) und B2b durch Reaktion von 1 Mol 5,7-Dimethoxyflavon mit 2 Mol o-Hydroxyacetophenon (Ber. Mol.Gew. 554, gef. Mol. Gew. 553-559). B3a könnte in Näherung ein Dimerisationsprodukt von B2b sein, bedenkt man die Ungenauigkeit bei der Bestimmung so hoher Molekulargewichte.

Diese vom Molekulargewicht aus mögliche Aussage konnte allerdings durch die Methoxylwerte nicht untermauert werden. Für B1 liegt der Wert zwischen 1 und 2 CH_3O -Gruppen, für B2b zwischen 2 und 3 CH_3O -Gruppen. Für den starken Abfall der Kohlenstoffwerte von B3a gegenüber B2b - wobei Oxydation durch Luftsauerstoff ausgeschlossen werden muß - findet sich bei Annahme einer einfachen Dimerisierung von B2b keine Erklärung.

Diese Ergebnisse können allerdings auch andeuten, daß die Verbindungen noch nicht genügend rein sind.

Der Versuch, die aus den Molekulargewichten abgeleiteten Aussagen durch Einführung von o-Chloracetophenon anstelle von o-Hydroxyacetophenon und Durchführung von Chlorbestimmungen zu erhärten, scheiterte daran, daß die Darstellung reiner Produkte noch weitaus schwieriger ist, obgleich die Reaktion prinzipiell möglich ist. (s. Tabelle 7). Da die Umsetzung nur bei höheren Temperaturen erfolgt, bilden sich teerige Nebenprodukte in großer Menge, die nicht abgetrennt werden können. Die Ausbeute an Farbstoff ist außerdem entsprechend sehr gering. In Fortsetzung dieser Versuche müßte darum o-Hydroxy-p-chloracetophenon eingesetzt werden.

Die NMR-Spektren von B2b und B3a zeigten, daß die Acetylgruppe aus dem Acetophenonanteil nicht mehr vorhanden ist. Die Spektren zeichneten sich weiterhin durch eine Fülle nicht deutbarer Signale im Bereich der aromatischen und olefinischen

Protonen aus. Lediglich für die Substanz B3a konnte mit einiger Sicherheit das Vorliegen von 3-4 olefinischen Protonen festgestellt werden. - Die Tatsache, daß 3-Methoxyflavone nicht mit o-Hydroxyacetophenon reagierten, ließ vermuten, daß die 3-Stellung der Flavone, die bei den Flavonolen substituiert ist, für diese Umsetzung von Bedeutung ist. Das Signal des Protons in 3-Stellung der Flavone liegt im Bereich der Signale für olefinische Protonen (36). Daher hätte ein völliges Verschwinden der Signale in diesem Bereich die ursprüngliche Vermutung bestätigen können. Andernfalls gibt das Vorhandensein olefinischer Protonen eine Möglichkeit, die intensive Farbigkeit der Verbindungen durch Ausbildung stark konjugierter Systeme zu erklären. - Im Zusammenhang mit der intensiven Farbigkeit der Verbindungen mußten auch Überlegungen und Untersuchungen über ihre Indikatoreigenschaft stehen. Hier brachte die Untersuchung der IR-Spektren einen wesentlichen Fortschritt:

Die im Sauren vorliegenden intensiv gefärbten Verbindungen zeigen das Vorliegen chelatierter phenolischer Hydroxylgruppen. Diese OH-Gruppen geben keine ausgeprägten Signale, sondern können an einem allmählichen Abfall der Nulllinie bei Wellenzahlen oberhalb 2000 cm^{-1} erkannt werden. Bei den im Basischen vorliegenden weniger intensiv gefärbten analogen Verbindungen ist der allmähliche Abfall der Nulllinie nicht mehr vorhanden. Das gleiche Verhalten wird an 2'-Hydroxychalkonen und den isomeren Flavanonen beobachtet.

Im Elektronenspektrum verschwindet das langwellige Absorptionsmaximum der 2'-Hydroxychalkone, wenn sie in die isomeren Flavanone überführt werden. Die Spektren der neuen Verbindungen zeigen ebenfalls, daß die Intensität der stark bathochrom verschobenen langwelligen Maxima mit sinkender Wasserstoffionenkonzentration abnimmt und daß die Banden im alkalischen Milieu vollständig verschwinden.

Wir halten die Verbindungen für neuartig substituierte, besonders rasch und vollständig isomerisierende 2'-Hydroxychalkon-Flavanon-Tautomerenpaare oder ähnliche Systeme.

Die analytischen Daten der Verbindung B2b stützen diese Ver-

mutung am besten: Das Molekulargewicht ergab hier, daß 1 Flavonmolekül mit 2 Acetophenonmolekülen reagiert haben könnte. Wenn die Reaktionsprodukte Chalkone bzw. Flavanone sind, könnten die in Abb. 31 formulierten Strukturen angenommen werden.

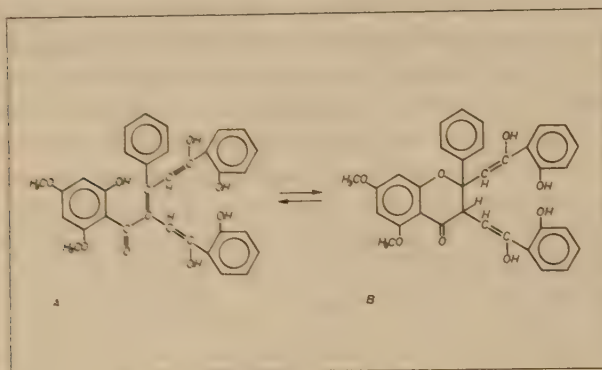


Abb. 31: Strukturvorschlag für das Isomerenpaar B2a(A) und B2b(B)

Die isomeren Flavanone der intensiv gelb gefärbten 2'-Hydroxychalkone sind farblos. Wir wissen nicht, ob ein derart substituiertes Flavanon B (Abb. 31) trotz Aufhebung der Konjugation intensive Farbe (gelb-orange) aufweisen kann. Aber auch andere Ringschlüsse - bei denen die Konjugation nicht völlig unterbrochen ist - sind denkbar. Zwei weitere Möglichkeiten sind in Abb. 32 formuliert.

Endgültige Aussagen über Zahl und Lage der Doppelbindungen sowie über die Substitution der Systeme können noch nicht gemacht werden. Die Anzahl der Sauerstoff-Funktionen steht jedoch in Übereinstimmung mit der Elementaranalyse:

Ber. Mol.Gew. 552,6, C 71,8% H 5,1%, CH₃O 11,2%

Gef. Mol.Gew. 553-559, C 72,8% H 5,1%, CH₃O 14,6%

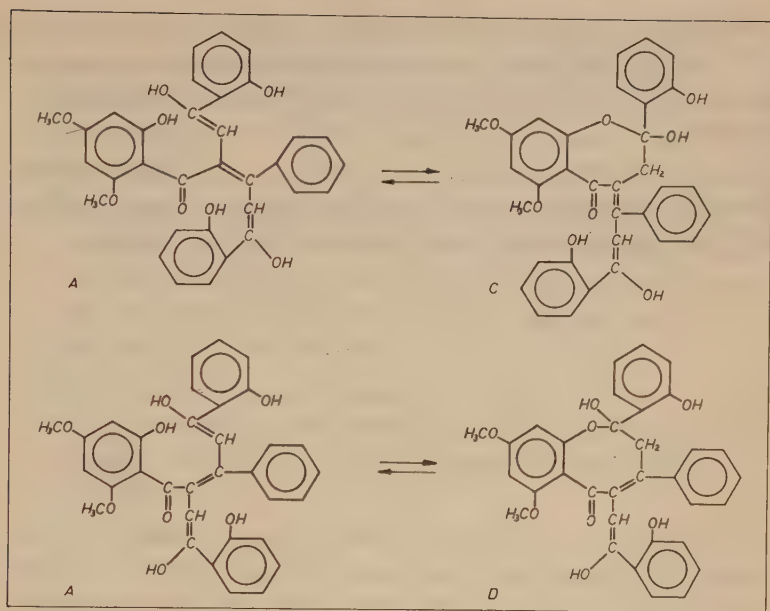


Abb. 32: Weitere mögliche Ringschlüsse von B2a(A)
zu B2b(B)

Lediglich die OCH_3 -Werte zeigen eine größere Abweichung. Durch wechselnden Einsatz chlorierter Ausgangsverbindungen wäre hier eine weitere Klärung möglich.

Die angenommenen Strukturen können folgende Eigenschaften der beschriebenen Verbindungen erklären:

- 1) Die intensive Farbe,
- 2) den Farbwechsel in Abhängigkeit vom pH.
- 3) Die Reaktionsfähigkeit der Verbindungen, die zur Bildung analoger Produkte führt.
- 4) Den Mangel an Kristallisationsfähigkeit durch das Vorliegen von Mischungen tautomerer Verbindungen und die Tatsache, daß bei chromatographischem Arbeiten stets Isomerisierung eintritt, was sich bei Arbeiten im präpa-

rativen Maßstab besonders nachteilig auswirkt.

In Fortführung dieser Untersuchungen müßten Hydrierungsversuche stehen, um durch Unterbindung der Isomerisierungsfähigkeit zu kristallisierbaren und stabileren Produkten zu gelangen.

Zahlreiche Fragen sind noch ungeklärt. Darum sollte abschließend versucht werden, eine Erklärung für den völlig unübersichtlichen Ablauf der Startreaktion zu finden.

Untersuchung der Startreaktion

Ziel dieser Untersuchung war, in dem Reaktionsansatz Flavon, Thionylchlorid und Pyridin vor Zugabe des o-Hydroxyacetophenons ein reaktionsfähiges Flavonderivat nachzuweisen und zu isolieren. Ausgangspunkt waren folgende Beobachtungen:

- 1) Tropft man zu einer Lösung von 5,7-Dimethoxyflavon in Methylenchlorid oder Chloroform bei Zimmertemperatur Thionylchlorid, so färbt sich die Lösung rot-orange und nach kurzer Zeit fällt ein orange gefärbtes kristallines Produkt aus.
- 2) Versetzt man anschließend mit Pyridin, so wird der Ansatz zunächst homogen und färbt sich dabei dunkelrot. Nach einiger Zeit erstarrt die Lösung zu einem dicken Kristallbrei.

Beide Ansätze wurden getrennt hergestellt. Die Lösungen wurden von den Kristallen abgesaugt, diese mit Methylenchlorid gewaschen und über NaOH getrocknet. Es entstand in beiden Fällen ein gelb-orange gefärbtes, kristallines, in Chloroform und Methylenchlorid schwerlösliches Produkt. - Die Mutterlaugen und die entsprechenden kristallinen Rückstände (diese in Methylenchlorid suspendiert) wurden anschließend mit Pyridin (außer der Pyridin enthaltenden Mutterlauge) und o-Hydroxyacetophenon versetzt. Dabei lief in den Mutterlaugen die Reaktion unter intensiver Grünfärbung ab, beiden Kristallsuspensionen, die homogen geworden waren, nicht. Erst nach erneuter Zugabe von Thionylchlorid setzte auch hier die Reaktion ein. Das kristalline Produkt kann danach nicht - wenigstens nicht allein - das reaktionsfähige Startprodukt sein. Trotzdem wurden die beiden Kristallprodukte untersucht, sie waren identisch und erwiesen sich als 5,7-Dimethoxyflavonhydrochlorid. Der Beweis wurde durch Chloranalyse und Untersuchung der Hydrolyseeigenschaften der Substanzen erbracht. In wässriger Lösung, besonders in verdünntem Alkohol trat sofort Hydrolyse ein. Die Lösung reagierte stark sauer und ergab mit Silberionen einen in Salpetersäure schwerlöslichen weißen Niederschlag. Der nach

der Hydrolyse ausgefällte blaßgelbe Rückstand hatte nach Umkristallisation aus Methanol denselben Schmelzpunkt wie 5,7-Dimethoxyflavon, der Mischschmelzpunkt ergab keine Depression. Außerdem wurde 5,7-Dimethoxyflavonhydrochlorid durch Einleiten von trockenem Chlorwasserstoff in die Chloroformlösung des Flavons (37) dargestellt. Das auf diesem Wege hergestellte Salz war identisch mit dem Produkt, das durch Umsetzung mit Thionylchlorid erhalten worden war. Im Rahmen dieser Untersuchungen wurden weitere Flavone bezüglich ihrer Salzbildung mit Thionylchlorid und Chlorwasserstoff untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 12 zusammengestellt.

Flavon	Lösungsmittel	Salzbildung mit	
		HCl	SOCl ₂
Flavon	Äther	+	+
5,7-Dimethoxyflavon	Chloroform	+	+
Flavonolmethyläther	Äther	+	-
Quercetinpenta- methyläther	Chloroform	+	-

Tabelle 12: Möglichkeit der Salzbildung von Flavonen und Flavonolen mit HCl und SOCl₂

Die dargestellten Salze haben die gemeinsame Eigenschaft, wenig oberhalb des Schmelzpunktes der Flavone unter Gasentwicklung allmählich zu schmelzen. Die Hydrochloride von Flavon und 3-Methoxyflavon sind in Chloroform gut löslich und wurden darum aus Äther gewonnen.

Besonders wichtig ist jedoch die Tatsache, daß die Flavonole zwar mit Chlorwasserstoff, nicht aber mit Thionylchlorid Hydrochloride bilden.

Schon zu Beginn der Untersuchungen herrschte große Unklarheit darüber, wie sich überhaupt Flavonhydrochloride mit SOCl₂ bei Ausschluß hydrolytischer Bedingungen bilden können. Aus diesem Grunde wurden besonders sorgfältig getrocknete Substanzen, Reagenzien und Lösungsmittel angewendet,

die Ergebnisse ließen sich immer reproduzieren.

Wir glauben nun, daß die Bildung von Flavonhydrochloriden aus Flavonen mit SOCl_2 unter Ausschluß hydrolysierender Bedingungen für den Ablauf der Farbreaktion von Bedeutung ist. Folgende Beobachtung bestätigt diese Vermutung: Der breiig kristalline Ansatz aus Flavon, SOCl_2 und Pyridin wird nach vierstündigem Stehen bei der Zugabe von o-Hydroxyacetophenon unter Auflösung des kristallinen Flavonhydrochlorids augenblicklich homogen. Nach 5 - 10 Minuten ist der Ansatz intensiv grün gefärbt. Die Möglichkeit, daß der primäre Reaktionsschritt am Acetophenon und nicht am Flavon erfolgt, konnte durch eine weitere Beobachtung widerlegt werden: Entgegen der vorhergehenden Beobachtung benötigt die Farbreaktion bei gleichzeitiger Zugabe aller vier Reaktionsteilnehmer eine Reaktionszeit von vier Stunden. Nach zwei Stunden wird die erste Verfärbung beobachtet.

Es hat uns überrascht, daß Flavonhydrochloride trotz der geringen Basizität des Flavonmoleküls neben Pyridin, das als Base für den Reaktionsablauf erforderlich ist, existenzfähig sind. Das Problem konnte geklärt werden, denn aus einer 5,7-Dimethoxyflavonlösung - Methylenchlorid als Lösungsmittel - die mit Pyridinhydrochlorid gesättigt war, konnte Flavonhydrochlorid isoliert werden. Ursache seiner Bildung ist die geringe Löslichkeit von Flavonhydrochloriden gegenüber Pyridinhydrochlorid in wenig polaren Lösungsmitteln.

Die leichte Bildung von Flavonhydrochloriden mit Thionylchlorid bei Raumtemperatur (und ihre geringe Löslichkeit) wurde bei der angestrebten Darstellung des Säurechlorids der 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4' zur Hauptreaktion und verhinderte die Darstellung dieser Verbindung.

III. Beschreibung der Versuche

A Ausgangsverbindungen

- 1) Phloracetophenondimethyläther:
Aus Phloroglucin nach der Arbeitsvorschrift von Kostanecki (38).
- 2) Benzaldehydcarbonsäure-3:
Aus m-Tolunitril nach der Arbeitsvorschrift von Reinglass (39).
- 3) Benzaldehydcarbonsäure-4:
Aus Therephthaldehyd nach der Arbeitsvorschrift von Löw (40).

B Vergleichsverbindungen

- 1) 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkon:
Aus Phloracetophenondimethyläther und Benzaldehyd nach der Arbeitsvorschrift von Kostanecki (14).
- 2) 5,7-Dimethoxyflavanon:
Aus 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkon nach der Arbeitsvorschrift von Kostanecki (14).
- 3) 5,7-Dimethoxyflavon:
Aus 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkon durch Selen-dioxydation nach der Methode von Mahal, Rai und Venkataraman (8). Fp 149° (Lit.Schmp.143° (41), außerdem existieren weitaus niedrigere Angaben in älteren Arbeiten.)
- 4) Quercetinpentaacetat:
Aus Quercetin nach der Methode von Freudenberg (42).
- 5) Quercetinpentabenzooat:
Aus Quercetin und Benzoylchlorid analog zur Acetylierungsmethode von Freudenberg (42).
- 6) Quercetinpentamethyläther:
Aus Quercetin nach der Methode von Jurd (43). Fp 150 - 151° (Lit.Schmp. zwischen 148° und 152°).

C Neue Verbindungen

I: 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäure-4

Die heiße Lösung von 5g Phloracetophenondimethyläther und 5g Benzaldehydcarbonsäure-4 in 100 ml Methanol wurde mit 20 ml 50%iger wäßriger KOH versetzt. Unter Gelbfärbung setzte die Reaktion ein. Nach eintägigem Stehen bei Raumtemperatur war die Lösung tieforange gefärbt und es hatte sich ein intensiv gelber kristalliner Niederschlag gebildet. Der Ansatz wurde auf 0° abgekühlt und in einem Guß in überschüssige 20%ige H₂SO₄ (eiskühlt) eingetragen. Anschließend wurde eine gleichgroße Menge Eiswasser zugesetzt und bis zur Zusammenballung der Fällung stehen gelassen. Danach wurde der gelbe Niederschlag von der farblosen Lösung abfiltriert und getrocknet. Das getrocknete Rohprodukt wurde zur Entfernung des nicht umgesetzten Phloracetophenondimethyläthers mit Äther extrahiert und aus Äthanol umkristallisiert: Gelbe Nadelchen, Ausbeute 60%, Fp 254 - 255°.

C₁₈H₁₆O₆ Ber.: C 65,85 H 4,90 CH₃O 18,91
Mol.Gew. 328,3 Gef.: C 65,80 H 4,87 CH₃O 18,64

Ia. 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäure-4-(2,4-dinitrophenylhydrazon)

Die heiß gesättigte Lösung des Chalkons in Methanol (0,1g in 70 ml) wird mit 10 ml Dinitrophenylhydrazinreagenzlösung (1g 2,4-Dinitrophenylhydrazin und 3,3 ml 36%ige HCl in 100 ml Methanol) versetzt und 10 Stunden unter Rückfluß gekocht. Aus der tiefroten Lösung scheidet sich nach dem Erkalten an der Gefäßwand eine dunkelrote kristalline Substanz ab. (0,02g) Die Verbindung kristallisiert aus einer Dioxan-Methanol-Mischung (3 : 1) in dunkelroten Nadelchen, Fp 214°.

C₂₄H₂₀O₉N₄ Ber.: C 56,69 H 3,97 N 11,02
Mol.Gew. 508,5 Gef.: C 57,58 H 4,27 N 10,63

II. 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäure-3

Die Darstellung aus Phloracetophenondimethyläther und Benzaldehydcarbonsäure-3 und die Reinigung erfolgten wie unter I beschrieben. Die Substanz kristallisierte aus Äthanol in gelben Nadelchen, Ausbeute 60%, Fp 295°.

$C_{18}H_{16}O_6$ Ber.: C 65,85 H 4,80 CH_3O 18,91

Mol.Gew. 328,3 Gef.: C 65,79 H 4,70 CH_3O 19,49

III. 5,7-Dimethoxyflavanoncarbonsäure-4'

3g 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäure-4 wurden 10 Stunden mit 1000 ml 30%iger Essigsäure unter Rückfluß gekocht. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die gelbe, kristalline Abscheidung abfiltriert und das farblose Filtrat auf -10° abgekühlt. Die nach einigen Stunden auskristallisierte Substanz (farblos) wurde scharf abgesaugt, getrocknet und aus Methanol umkristallisiert: Fp 210° (durch Aufstreuen auf einen Metallblock gemessen).

$C_{18}H_{16}O_6$ Ber.: C 65,85 H 4,90

Mol.Gew. 328,3 Gef.: C 65,77 H 5,01

IIIa. 5,7-Dimethoxyflavanoncarbonsäure-4'-(2,4-dinitrophenylhydrazon)

Zu der auf Raumtemperatur abgekühlten Lösung von 0,03g Flavanon in 30 ml Methanol wurden 5 ml Dinitrophenylhydrazinreagenzlösung gegeben (s. Ia). Die Lösung färbte sich schnell rot und nach kurzer Zeit entstand eine massive rote, kristalline Abscheidung. Nach ungefähr einer Stunde war die Reaktion beendet, die überstehende Lösung war nicht mehr rot, sondern nur noch gelb gefärbt. Die Substanz wurde dreimal je 30 Minuten mit 20 ml Methanol ausgekocht: Rote Nadelchen, Ausbeute 90%, Fp 250 - 251°.

$C_{24}H_{20}O_9N_4$ Ber.: C 56,69 H 3,97 N 11,02

Mol.Gew. 508,5 Gef.: C 56,56 H 4,13 N 10,82

IV. 5,7-Dimethoxyflavanoncarbonsäure-3'

lg 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäure-3 wurden in 250 ml 10%iger Kaliumbicarbonatlösung unter Erwärmen gelöst und die Lösung kurz auf 100° erhitzt. Die schwach gelb gefärbte Lösung wurde nach dem Erkalten mit 20%iger H₂SO₄ angesäuert, der Niederschlag abgesaugt und getrocknet. Das Rohprodukt wurde staubfein pulverisiert und dann mit wenig warmem Methanol mehrmals zu einer breiigen Anschlammung verrieben und noch warm scharf abgesaugt. Die farblose Rückstand wurde aus Methanol umkristallisiert: Farblose Nadelchen, Ausbeute 20%, Fp 194° (durch Aufstreuen auf einen Metallblock gemessen).

C₁₈H₁₆O₆ Ber.: C 65,85 H 4,90

Mol.Gew. 328,3 Gef.: C 65,86 H 4,90

IVa. 5,7-Dimethoxyflavanoncarbonsäure-3'-(2,4-dinitrophenylhydrazon)

Darstellung und Reinigung erfolgten wie unter IIIa beschrieben: Tiefröte Nadelchen, Ausbeute 90%, Fp 235 - 236°.

C₂₄H₂₀O₉N₄ Ber.: C 56,69 H 3,97 N 11,02

Mol.Gew. 508,5 Gef.: C 56,68 H 4,17 N 10,90

V. 5,7-Dimethoxyflavanoncarbonsäure-4'-methylester

Die Lösung von 0,2g 5,7-Dimethoxyflavanoncarbonsäure-4' in 40 ml Methanol wurde bei Raumtemperatur bis zur anhaltenden Gelbfärbung mit einer Lösung von Diazomethan in Äther versetzt. Die nach dem Einengen der Lösung ausgeschiedenen Kristalle wurden aus Methanol umkristallisiert: Lange farblose Nadeln, Ausbeute 80%, Fp 130 - 131°. Die Substanz wurde zur Identifizierung in der Kälte - in Methanol gelöst - mit einigen Tropfen 50%iger KOH in 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäure-4 überführt.

VI. 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäure-4-methylester

Der Flavanoncarbonsäureester wurde in ein mit CO₂ begastes

Glasröhrchen eingeschmolzen und im Ölbad 30 Minuten lang auf 205 - 210° erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde der Inhalt des Röhrchens aus Methanol umkristallisiert: Goldgelbe, kurze, breite Nadeln, Ausbeute 75%, Fp 144°. Die Identifizierung der Substanz erfolgte wie unter V beschrieben.

VII. 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4'-methylester

1g 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäure-4 und 2g SeO₂ in 60 ml Isoamylalkohol wurden 20 Stunden unter Rückfluß gekocht. Der gebildete Niederschlag wurde in 20%iger warmer Natriumkarbonatlösung gelöst und die Amylalkohollösung mit der Sodalösung extrahiert. Die vereinigten wäßrigen Lösungen wurden filtriert und so das ungelöste Selen abgetrennt. Dann wurde mit 20%iger H₂SO₄ angesäuert, der Niederschlag abfiltriert, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Das rotgefärbte Rohprodukt wurde in 200 ml Methanol suspendiert und in die intensiv gerührte Suspension 5 Stunden lang trockener Chlorwasserstoff eingeleitet. Der Ansatz wurde auf -10° abgekühlt und der gelbe kristalline Rückstand von der braunroten Lösung abfiltriert. Nach dem Waschen mit Eiswasser und Trocknen wurde der jetzt weiße Rückstand aus Methanol umkristallisiert: Lange farblose Nadeln, Ausbeute 60%, Fp 205°.

C₁₉H₁₆O₆ Ber.: C 67,06 H 4,74

Mol.Gew. 340,3 Gef.: C 66,97 H 4,76

VIIa. 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4'-methylester-(2,4-dinitrophenylhydrazon)

0,2g Flavoncarbonsäureester wurden in 20 ml Isoamylalkohol gelöst und mit 3 ml Dinitrophenylhydrazinreagenzlösung versetzt. Das Lösungsmittel wurde dann langsam im Wasserbad (100°) mit schwachem Vakuum (150 Torr) abgedampft. Der dunkelrote Rückstand wurde nacheinander je zweimal mit 10 ml Amylalkohol und 10 ml Methanol ausgekocht. Die zurückbleibenden dunkelroten Nadelchen ergaben eine Ausbeute von 45%, Fp 287°.

C₂₅H₂₀O₉N₄ Ber.: C 57,70 H 3,87 N 10,76

Mol.Gew. 520,5 Gef.: C 58,43 H 3,95 N 10,23

VIIb. Kondensationsprodukt von 5,7-Dimethoxyflavoncarbon-
säure-4'-methylester mit Barbitursäure

0,03g Flavoncarbonsäureester und 0,02g Barbitursäure wurden in einer Mischung von 5 ml Acetanhydrid und 10 ml Eisessig 4 Stunden unter Rückfluß gekocht. Die klare tiefrote Lösung wurde noch heiß mit 15 ml heißem Wasser versetzt und dann im Eisbad der Kristallisation überlassen. Der gebildete Niederschlag wurde abgesaugt, getrocknet und aus Methanol umkristallisiert: Orangerote Nadelchen, Ausbeute 75%; die Substanz zersetzt sich oberhalb 300° ohne zu schmelzen.

$C_{23}H_{18}O_8N_2$ Ber.: C 61,33 H 4,03 N 6,22

Mol.Gew. 450,4 Gef.: C 61,30 H 4,29 N 6,33

VIII. 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4'

1g des Esters wurde in 20 ml warmem Methanol suspendiert und mit 2 ml 10%iger KOH versetzt. Nach 3 Minuten wurde die klare Lösung mit 10 ml Wasser versetzt und 5 Minuten auf dem Wasserbad erwärmt. Nach Zusatz von 2 ml 36%iger HCl wurde die entstandene Suspension weitere 30 Minuten auf dem Wasserbad erhitzt und nach dem Erkalten filtriert. Die Umkristallisation des Rückstandes aus n-Butanol ergab blaßgelbe Nadelchen, Ausbeute 90%, Fp 300 - 305°.

$C_{18}H_{14}O_6$ Ber.: C 66,26 H 4,33 CH_3O 19,02

Mol.Gew. 326,3 Gef.: C 66,04 H 4,76 CH_3O 19,00

VIIIa. 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4'-(2,4-dinitrophenyl-
hydrazon)

0,2g Flavoncarbonsäure wurden analog zu VIIa umgesetzt und das Reaktionsprodukt in gleicher Weise gereinigt: Dunkelrote Nadelchen, Ausbeute 30%, Fp 303°.

$C_{24}H_{12}O_9N_4$ Ber.: C 56,93 H 3,59

Mol.Gew. 506,4 Gef.: C 56,44 H 3,90

VIIIb. Kondensationsprodukt von 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4' mit Barbitursäure

0,03g Flavoncarbonsäure wurden analog zu VIIb umgesetzt. Es bildete sich eine massive, kristalline rote Fällung, die abgesaugt und zur Reinigung dreimal mit 10 ml Eisessig ausgekocht und abschließend mit Methanol gewaschen wurde: Leuchtend rote Nadelchen, Ausbeute 70%; die Substanz zersetzt sich oberhalb 350° ohne zu schmelzen.

$C_{22}H_{16}O_8N_2$ Ber.: C 60,55 H 3,70 N 6,42

Mol.Gew. 436,4 Gef.: C 59,63 H 4,20 N 6,98

IX. 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-3'-methylester

1g 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäure und 1,5g SeO_2 in 30 ml Isoamylalkohol wurden 20 Stunden unter Rückfluß gekocht. Die Aufarbeitung des Ansatzes erfolgte analog zu VII. Das gelb gefärbte Rohprodukt wurde in n-Butanol unter Erhitzen gelöst und zu der auf 40° abgekühlten Lösung allmählich bis zur bleibenden Gelbförbung eine Lösung von Diazomethan in Äther getropft. Das Lösungsmittelgemisch wurde abgezogen und der Rückstand aus Methanol umkristallisiert: Farblose Nadeln, Ausbeute 85%, Fp 199 - 200°.

$C_{19}H_{16}O_6$ Ber.: C 67,06 H 4,74

Mol.Gew. 340,3 Gef.: C 67,03 H 4,71

X. 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-3'

Der Methylester wurde analog zu VIII-verseift und das Verseifungsprodukt aus n-Butanol umkristallisiert: Blaugelbe Nadelchen, Ausbeute 85%, Fp 268 - 269°.

$C_{18}H_{14}O_6$ Ber.: 66,26 H 4,33 CH_3O 19,02

Mol.Gew. 326,3 Gef.: 66,00 H 4,61 CH_3O 18,92

XI. 5,7-Dihydroxyflavoncarbonsäure-4'

0,5g Dimethoxyflavoncarbonsäure wurden mit einer Mischung von 5ml Acetanhydrid, 10 ml Eisessig und 25 ml farbloser Jodwasserstoffsäure (d 1,7) 3,5 Stunden unter Begasung mit

CO₂ gekocht. Der erkaltete Ansatz wurde in 500 ml 20%ige Natriumbisulfitlösung gegossen und der Niederschlag abfiltriert, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Das Rohprodukt wurde mit 3 ml Acetanhydrid und 3 ml Pyridin (31) acetyliert, das Acetat aus Methanol umkristallisiert und analog zum Ester (VIII) verseift. Das Verseifungsprodukt wurde aus n-Butanol umkristallisiert: Kleine gelbe Nadelchen, die zu Büscheln zusammengelagert sind, Ausbeute 60%, Fp 339 - 342° (Zers.).

C₁₆H₁₀O₆ Ber.: C 64,43 H 3,38

Mol.Gew. 298,3 Gef.: C 64,46 H 3,47

Das Diacetat besteht aus farblosen Nadeln, Ausbeute 80%, Fp 225 - 226°.

XII. 5,7-Dihydroxyflavoncarbonsäure-4'-Natriumsalz

0,1g Dihydroxyflavoncarbonsäure und 0,05g NaHCO₃ wurden in 10 ml Wasser bis zur Lösung erwärmt, filtriert und mit 15 ml Natriumphosphatpufferlösung pH 7 versetzt. Beim Stehen im Kühlschrank über Nacht schied sich das Natriumsalz in blaßgelben Nadeln ab, die nicht schmelzbar waren; Ausbeute 70 %. Die Substanz löste sich gut in Wasser, weniger gut in Methanol, beim Ansäuern fiel die freie Säure wieder aus.

XIII. 5,7-Dihydroxyflavoncarbonsäure-3'

Darstellung und Reinigung erfolgte analog zu der unter XI beschriebenen Methode: Gelbe Nadelchen, Ausbeute 70%, Fp 333 - 335° (Zers.).

C₁₆H₁₀O₆ Ber.: C 64,43 H 3,38

Mol.Gew. 298,3 Gef.: C 64,40 H 3,42

Das Diacetat besteht aus farblosen Nadeln, Fp 227 - 228°.

XIV. 3-Hydroxy-5,7-dimethoxyflavoncarbonsäure-4'

Die heiße Lösung von 1g 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4' in 100 ml Methanol wurde abwechselnd mit kleinen Anteilen von insgesamt 1g Amylnitrit und 15 ml HCl (d 1,19) und nach dem

Erkalten solange mit Wasser versetzt, bis keine weitere Ausfällung erfolgte. Der mit Wasser gewaschene Niederschlag wurde 30 Minuten mit 40 ml Eisessig und 20 ml 10%iger H_2SO_4 gekocht. Die heiße Lösung wurde mit 60 ml heißem Wasser versetzt und im Eisbad abgekühlt, das auskristallisierte Produkt wie in XI acetyliert und das Acetat wie in VIII verseift. Das Verseifungsprodukt wurde aus n-Butanol umkristallisiert: Blaßgelbe Nadelchen, Ausbeute 30 %, Fp 310° .

$C_{18}H_{14}O_7$ Ber.: C 63,16 H 4,13 CH_3O 18,13
Mol.Gew. 342,3 Gef.: C 63,00 H 4,39 CH_3O 18,17

Das Monoacetat bestand aus elfenbeinfarbenen Nadelchen, Fp $212 - 214^{\circ}$.

XV. 3-Hydroxy-5,7-dimethoxyflavoncarbonsäure-3'

Die Umsetzung der 5,7-Dimethoxyflavanoncarbonsäure-3' erfolgte in gleicher Weise wie unter XIV beschrieben. Vor der Acetylierung wurde das Rohprodukt jedoch mit Chloroform extrahiert. Der Rückstand wurde dann wie in XI acetyliert und das Acetat wie in VIII verseift. Das Verseifungsprodukt wurde aus n-Butanol umkristallisiert: Blaßgelbe Nadelchen, Ausbeute 20%, Fp $280 - 281^{\circ}$.

$C_{18}H_{14}O_7$ Ber.: C 63,16 H 4,13 CH_3O 18,13
Mol.Gew. 342,3 Gef.: C 63,46 H 4,93 CH_3O 17,38

XVI. 3-Hydroxy-5,7-dimethoxyflavoncarbonsäure-3'-methylester

Die unter XV angefallene Chloroformlösung wurde zur Trockne eingedampft und der Rückstand aus Methanol umkristallisiert: Dicke gelbe Nadeln, Ausbeute 8%, Fp 207° .

$C_{19}H_{16}O_7$ Ber.: C 64,04 H 4,53 CH_3O 26,00
Mol.Gew. 358,3 Gef.: C 64,15 H 4,51 CH_3O 25,59

Durch Verseifung analog zu VIII entstand die freie Säure (XV).

XVII. 3,5-Dihydroxy-7-methoxyflavoncarbonsäure-4'

0,5g 3-Hydroxy-5,7-dimethoxyflavoncarbonsäure wurden wie unter XI mit dem Entmethylierungsgemisch 20 Minuten gekocht. Die Aufarbeitung des Ansatzes und die Reinigung des Rohproduktes erfolgten analog. Die Verseifung des Acetats (VIII) ergab nach Umkristallisation aus n-Butanol kompakte gelbe Nadelchen, Ausbeute 70%, Fp 330° (Zers.).

$C_{17}H_{12}O_7$ Ber.: C 62,20 H 3,69 CH_3O 9,45

Mol.Gew. 328,3 Gef.: C 62,03 H 3,70 CH_3O 8,73

Das Diacetat besteht aus farblosen Nadeln, Fp 207°.

XVIII. 3,5,7-Trihydroxyflavoncarbonsäure-4'

Die Suspension von 0,5g 3-Hydroxy-5,7-dimethoxyflavoncarbonsäure in 30 ml Methylenchlorid wurde auf -40° abgekühlt und allmählich mit 25g Bortribromid (ebenfalls auf -40° abgekühlt) versetzt. Nachdem sich der Ansatz auf Raumtemperatur erwärmt hatte, wurde er 48 Stunden unter Ausschluß von Luftfeuchtigkeit in einer Schüttelapparatur geschüttelt. Danach wurde erneut auf -40° abgekühlt und die Suspension auf einer Glasfritte rasch abgesaugt. Der Rückstand wurde vorsichtig mit Eiswasser behandelt, scharf abgenutscht und aus 70%igem Äthanol umkristallisiert: Unauffällig kristalline, gelbe Substanz, Ausbeute 80%, Fp 330 - 340° (Zers.).

$C_{16}H_{10}O_7$ Ber.: C 61,15 H 3,21

Mol.Gew. 314,3 Gef.: C 60,86 H 3,16

Der Methylester entstand durch Behandlung des Reaktionsrückstandes mit Methanol und Kristallisation des Reaktionsproduktes aus Äthanol: Gelbe Nadeln, Ausbeute 85%, Fp 305° (Zers.). Ber.: CH_3O 9,4; Gef.: CH_3O 9,9. Bei der Verseifung nach VIII entstand die freie Säure.

XIX. Gemischtes Anhydrid aus 5,7-Dimethoxyflavoncarbonsäure-4' und Essigsäure

0,5g der Flavoncarbonsäure und 25 ml Acetanhydrid wurden 24 Stunden unter Rückfluß gekocht. Die im Eisbad auskristalli-

sierte Substanz wurde scharf abgesaugt und aus Essigester umkristallisiert: Farblose Nadeln, die sich erst nach längerem Kochen in Kaliumbicarbonatlösung langsam unter Rückbildung der freien Säure lösen.

Schmelzpunkte:

- a) In der Kapillare: 280 - 285°
- b) Durch Aufstreuen auf einen Metallblock: 1. 218 - 220° unter Gasentwicklung und anschließendem Erstarren,
2. 280 - 285°.



Mol.Gew.: Ber.: 369,4 Gef.: 370

XX. Kondensationsprodukt von Quercetinpentamethyläther mit Barbitursäure

0,6g Pentamethylquercetin und 0,4g Barbitursäure wurden mit 10 ml Acetanhydrid und 10 ml Eisessig 4 Stunden unter Rückfluß gekocht und nach dem Erkalten mit 40 ml Wasser versetzt und in Eis gestellt. Durch Kristallisation des Präzipitates aus Methanol entstanden kleine dunkelrote Nadeln, Ausbeute 60%, Fp 281°.

$C_{24}H_{22}O_9N_2$ Ber.: C 59,75 H 4,60 N 5,81

Mol.Gew. 482,5 Gef.: C 58,68 H 4,61 N 5,96

XXI. 5,7-Dimethoxyflavanon-(2,4-dinitrophenylhydrazon)

Die Darstellung erfolgte wie unter IIIa beschrieben aus 0,3g 5,7-Dimethoxyflavanon. Nach Kristallisation aus Dioxan entstanden lange rote Nadeln, Ausbeute 85%, Fp 222 - 223°.

$C_{23}H_{20}O_7N_4$ Ber.: C 59,48 H 4,33 N 12,06

Mol.Gew. 464,41 Gef.: C 59,35 H 4,41 N 11,56

XXII. Pentabenzylquercetin

1g Quercetin (wasserfrei) wurde mit 3 ml Benzylchlorid, 0,3g Kaliumjodid und 5g geglühtem Kaliumcarbonat in 100 ml Aceton 12 Stunden unter Rückfluß gekocht (44). Der Ansatz wurde filtriert, das Filtrat eingeeengt und der Rückstand

mit Petroläther digeriert. Der danach verbleibende Rückstand wurde noch einmal in gleicher Weise benzyliert und aufgearbeitet. Der Rückstand, der keine Eisenchloridreaktion mehr gab, wurde aus 85%igem wäßrigem Aceton umkristallisiert: Farblose Nadelchen, Ausbeute 50%, Fp 159 - 160°.

$C_{50}H_{40}O_7$ Ber.: C 79,77 H 5,36

Mol.Gew. 752,87 Gef.: C 78,69 H 5,57

XXIII. 5,7-Dimethoxyflavonhydrochlorid

0,3g 5,7-Dimethoxyflavon wurden in 5 ml Methylenchlorid gelöst und in der Kälte mit 0,5 ml zweimal über Leinöl destilliertem $SOCl_2$ versetzt. Das Gefäß wurde mit einem Kalziumchloridrohr verschlossen. Nach 2 Stunden wurde die kristalline Abscheidung scharf abgenutscht und mit 10 ml eisgekühltem Methylenchlorid gewaschen. Die Substanz wurde bei Zimmertemperatur und schwachem Vakuum (100 Torr) über KOH getrocknet: Orange-gelbe Nadeln, Ausbeute 80%, Fp 150 - 155° unter Gasentwicklung.

$C_{17}H_{14}O_4 \cdot HCl$ Ber.: Cl 11,13

Mol.Gew. 318,8 Gef.: Cl 11,11

Bestimmung des Flavanongehaltes in Flavanon-Chalkon-Gemischen mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin

Der Gehalt eines Substanzgemisches (im Grenzfall einer Reinsubstanz) an Flavanon in Prozenten - bestimmt über das 2,4-Dinitrophenylhydrazon - errechnet sich nach der Formel:

$$X = F \cdot \frac{b}{a} \quad (\% \text{ Flavanon})$$

In ihr bedeuten:

$$F = \frac{\text{Mol.Gew. Flavanon}}{\text{Mol.Gew. Flavanondinitrophenylhydrazon}} \cdot 100$$

Für 5,7-Dimethoxyflavanon:

$$F = \frac{284,31}{464,44} \cdot 100 = 61,22$$

Für 5,7-Dimethoxyflavanoncarbonsäure-3' bzw. -4':

$$F = \frac{328,33}{508,46} \cdot 100 = 64,57$$

a = Einwaage an Flavanon enthaltender Substanz in mg.

b = Auswaage an Flavanonhydrazon in mg.

A. Durch Säuren und Basen katalysierte Isomerisierung von 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäuren

Isomerisierungsansätze:

- 1) 250 mg 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäure-3 wurden in 150 ml 10%iger Kaliumbicarbonatlösung unter Erwärmen gelöst und kurz auf 100° erhitzt. Die abgekühlte Lösung wurde mit 20%iger H₂SO₄ angesäuert, der Niederschlag mit Wasser gewaschen und getrocknet.
- 2) 250 mg 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäure-4 wurden auf gleiche Weise behandelt.
- 3) 250 mg 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkoncarbonsäure-4 wurden mit 150 ml Äthanol, 141 ml Wasser und 9 ml H₂SO₄ 24 Stunden unter Rückfluß gekocht. Dann wurde der Alkohol abgedampft, der Niederschlag mit Wasser gewaschen und getrocknet.
- 4) Der gleiche Ansatz wurde 48 Stunden gekocht.

- 5) 250 mg derselben Substanz wurden mit 150 ml Äthanol und 150 ml 10%iger HCl 24 Stunden gekocht. Der Ansatz wurde wie vorher beschrieben aufgearbeitet.
- 6) 250 mg derselben Substanz wurden mit 150 ml Äthanol und 150 ml 30%iger Essigsäure 12 Stunden gekocht. Dann wurden Alkohol und Essigsäure mit Wasserdampf abdestilliert und der Ansatz wie vorher beschrieben aufgearbeitet.

Die so erhaltenen Trockensubstanzen, deren Mengen zwischen 200 und 230 mg lagen (die Differenzmengen zu 250 mg sind als Verlust durch Haftung an Gefäßen und Filtern anzusehen) wurden genau gewogen und dann zu 25,00 ml mit Methanol gelöst. Hiervon wurden Proben zu 5,00 ml entnommen, von denen jede 40 bis 45 mg Substanz enthielt.

Von den zum Vergleich verwendeten Reinsubstanzen wurden ebenfalls genau gewogene Mengen in gleicher Größenordnung zu 25 ml gelöst und 5,00 ml-Proben entnommen.

Die Proben zu 5,00 ml wurden mit 5,0 ml Methanol und 5,0 ml Reagenzlösung (1g 2,4-Dinitrophenylhydrazin und 3,3 ml 36%ige HCl in 100 ml Methanol) versetzt, bei Zimmertemperatur stehengelassen und nach 12 Stunden auf einer Glasfritte vom ausgeschiedenen Niederschlag, der mit 5,0 ml kaltem Methanol gewaschen wurde, getrennt. Der kristalline Rückstand wurde bei 110° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. - Bei den Proben, die auf Grund von Decarboxylierungerscheinungen aus einem Hydrazongemisch bestanden, waren bis zu 48 Stunden für die quantitative Fällung erforderlich, dann war auch in diesen Fällen das Filtrat nur noch gelb gefärbt.

Von jedem Ansatz (25,00 ml) wurden vier Proben (je 5,00 ml) bestimmt, die Abweichungen lagen stets innerhalb $\pm 1\%$. In der folgenden Tabelle (Tabelle 13) sind unter b die Mittelwerte der Hydrazonauswaagen enthalten.

<u>Ansatz</u>	<u>Einwaage a in mg</u>	<u>Auswaage b in mg</u>	<u>% Flavanon</u>
5,7-Dimethoxyflavanon	45,2	72,2	97,8
5,7-Dimethoxyflavanon(+35,5 mg 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxy- chalkon)	36,4	57,8	97,2
5,7-Dimethoxyflavanoncarbon- säure-3'	42,7	64,3	97,2
5,7-Dimethoxyflavanoncarbon- säure-4'	42,5	64,7	98,3

Ansatz 1.	44,4	62,5	90,9
" 2.	45,0	63,5	91,1
" 3.	44,0	47,9	70,3
" 4.	43,2	51,9	77,6
" 5.	41,0	44,0	69,3
" 6.	42,6	50,1	76,0

Tabelle 13: Bestimmung des Isomerisierungsgrades der Chalkoncarbonsäuren in Abhängigkeit vom pH und der Reaktionszeit durch Messung des Flavanongehaltes mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin

B. Thermische Isomerisierung von 2'-Hydroxychalkonen und Flavanonen

Durch orientierende Vorversuche wurde ermittelt, daß bei Einwaagen von ca. 150 mg Chalkon oder Flavanon im Temperaturbereich von 100 - 200° Auswaagen an Flavanonhydrazon zwischen 40 und 80 mg zu erwarten waren. Lediglich bei den jeweils niedrigsten Erhitzungstemperaturen, wo entweder viel Chalkon neben wenig Flavanon oder das umgekehrte Verhältnis vorliegt, mußte die Menge des eingesetzten Chalkons erhöht und die des Flavanons reduziert werden (s. Tabelle 14), um in den geeigneten Meßbereich zu gelangen. Diese Werte entsprechen in der Größenordnung den Mengen, die schon bei der für die Untersuchung der durch Säuren und Basen katalysierten Isomerisierung der Chalkoncarbonsäuren ausgearbeiteten

Bestimmungsmethode zur Auswaage gebracht worden waren. Darum wurde auch bei dieser Untersuchung die Hydrazonefällung unter völlig gleichen Bedingungen (Lösungsvolumen, Reagenzmenge, Temperatur, Fällungsdauer, Waschflüssigkeitsmenge) durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 14 zusammengestellt.

Temperatur (°C)	Einwaage 2'-Hydroxy- chalkon (mg)	Auswaage Flava- nonhydrazon (mg)	Flavanon (%)
120°	300,0	32,4	6,6
160°	134,2	49,4	22,7
210°	146,1	60,8	25,9
	Einwaage Flavanon (mg)		
145°	51,0	66,5	91,0
160°	151,1	88,2	36,3
210°	145,3	60,5	25,9

Tabelle 14: Bestimmung des Flavanongehaltes in Chalkon-Flavanongemischen, die durch Erhitzung von 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkon und 5,7-Dimethoxyflavanon entstanden sind, mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin

Die Schmelzpunktsbestimmungen erfolgten mit der Lindström-apparatur und dem Schmelzblock nach Böhme (Entwurf zum DAB.7.), die Werte sind nicht korrigiert.

Die Bestimmung der Molekulargewichte erfolgte mit dem Dampfdruckosmometer 301A der Firma Mechrolab, Inc. (Lösungsmittel Aceton und Chloroform, Temperatur 37°C sowie Dioxan, Temperatur 65°C). Die IR-Spektren wurden mit dem Spektralphotometer 237 der Firma Perkin-Elmer aufgenommen.

Die UV-Spektren wurden mit dem Spektralphotometer M4QII der Firma Carl Zeiss aufgenommen.

Die Elementaranalysen und Methoxylwerte wurden ausgeführt von den mikroanalytischen Laboratorien

Dr. Bernhardt, Mühlheim/Ruhr und

Ilse Beetz, Kronach/Ofr.

IV. Literaturverzeichnis

- 1) H. Loth, Arch. Pharmaz. 294, 419 und 498 (1961)
295, 161 (1962)
- 2) H. Loth und D. Klinge, Arch. Pharmaz. 297, 165 (1964)
- 3) K.G. Heinrichi, Diss. Freie Universität Berlin, 1966
- 4) S. v. Kostanecki, R. Levi und J. Tambor, Ber. 32, 326
(1899)
- 5) S. v. Kostanecki und V. Lampe, Ber. 37, 773 (1904)
- 6) J. Algar und J.P. Flynn, Proc. Roy. Irish Acad. 42B, 1
(1934)
T. Oyamada, J. Chem. Soc. Japan 55, 1296 (1934)
- 7) T.A. Geissmann and D.K. Fukushima, J. Am. Chem. Soc. 70,
1686 (1948)
K.J. Balakrishna, T.R. Seshadri and G. Viswanath,
Proc. Indian Acad. Sci. 30A, 120
(1949)
T.S. Wheeler, Record Chem. Progr. (Kresge-Hooker Sci.
Lib.) 18, 133 (1957)
- 8) H.S. Malal, H.S. Rai und K. Venkataraman, J. Chem. Soc.
866 (1936)
- 9) T. Emilewicz und S. v. Kostanecki und J. Tambor, Ber. 32,
2448 (1899)
- 10) H. Fletcher, E.M. Philbin, P.D. Thornton und T.S. Wheeler,
Titrahedron Letters Nr.6, 9
(1959)
- 11) W. Baker, J. Chem. Soc. 1381 (1933)
H.S. Mahai und K. Ventkataraman, Current Sci. (India)
2, 214 (1933) J. Chem. Soc.
1767 (1934)
J.E. Gowanand T.S. Wheeler, J. Chem. Soc. 1925 (1950)
- 12) J. Allan and R. Robinson, J.Chem. Soc. 125, 2192 (1924)
- 13) F. Wesseley und G.H. Moser, Monatsh. Chem. 56, 97 (1930)
W. Baker, J. Chem. Soc. 956 (1939)
G. Zemplen, R. Bognár und J. Mechner, Ber. 77, 99 (1944)

- K.V. Rao and T.R. Seshadri, Proc. Indian Acad. Sci. 22A,
385 (1945)
- 14) S.v. Kostanecki, V. Lampe und J. Tambor, Ber. 37, 2803
(1904)
- 15) H.M. Lynch, T.M. O'Toole and T.S. Wheeler, J. Chem. Soc.
2063 (1952)
- 16) A.A. Raval and N.M. Shah, J.Sci. Ind. Research 21B, 5,
234 (1962)
- 17) D. Brulé, Ch. Mentzer, C.R. hebdom. Séances Acad. Sci.
250, 365 (1960)
Nach C. 134, Nr. 22,II, 9299 (1963)
- 18) E. Rakosi-David, Rezso Bognar, Acta Univ. Debrecen 7,
141 (1961)
Nach C.A. 58, No 6, 5617 h (1963)
- 19) R. Mozingo and H. Adkins, J. Am. Chem. Soc. 60, 669
(1938)
- 20) F. Eiden, Arch. Pharmaz. 295, 127 (1962)
- 21) W. Baker and R. Robinson, J. Chem. Soc. 3117 (1928)
- 22) T.H. Simpson and J.L. Beton, J. Chem. Soc. 80, 5531 (1958)
- 23) K.C. Gulatti, K. Venkataraman, J. Chem. Soc. 267 (1936)
- 24) L.R. Row and T.R. Seshadri, Proc. Indian Acad. Sci. 21A
130 (1945)
- 25) T.A. Geissmann and D.K. Fukushima, J. Am. Chem. Soc. 70,
1686 (1948)
- 26) T.H. Simpson, W.B. Whalley, J. Chem. Soc. 166 (1955)
- 27) N. Anand, R.N. Iyer and K. Venkataraman, Proc. Indian
Acad. Sci. 29A, 203 (1949)
- 28) J.F.W. Mc. Omie and M.L. Watts, Chem.Ind. (London) 41,
1658 (1963)
- 29) T.A. Geissman: The chemistry of flavonoid compounds,
Pergamon Press (1962), S. 162
- 30) V.A. Zagorevskii, J.D. Tsvetkova, E.K. Orlova, Sintez
Prirodn. Soedin., ikh. Analogov

i Fragmentov, Akad. Nauk SSSR,
Otd. Obschch. i Tekhn. Khim.
1965, 142

Nach C.A. 65 No.6, 8866d (1966)

- 31) A. Schönberg und S. Nickel, Ber. 67, 1795 (1934)
- 32) W.R. Brown, J. Chem. Soc. 1945, 601
J.P.E. Human and J.A. Miels, Nature 158, 877 (1946)
- 33) R. Robinson und K. Venkataraman, J. Chem. Soc. 2346 (1926II)
- 34) Hörhammer, Stichu und Wagner, Arch. Pharmaz. 294 685
(1961)
- 35) G. Pastuka und H. Trinks, Chemiker-Ztg. 85, 535 (1951)
- 36) T.J. Mabry, J. Kagan and H. Rösler, The University of
Texas Publication No 6418 (1964)
- 37) A.G. Perkin, J. Chem. Soc. 69, 1439 (1896) und 75, 825
(1899)
- 38) S. v. Kostanecki und J. Tambor, B. 32, 2260 (1899)
- 39) P. Reinglass, B. 24, 2421 und 2423 (1891)
- 40) W. Löw, A 231, 366
- 41) K.C. Gulati and K. Venkataraman, J. Chem. Soc. 1936, 267
- 42) K. Freudenberg, A. 433, 236
- 43) L. Jurd, J. org. Chem. (London), 27, 872 (1962)
- 44) R.C. Shah, V.V. Virkar und K. Venkataraman, J. Indian Chem.
Soc. 19, 135 (1942)

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden die 3'- u. 4'-Carbonsäuren des 5,7-Dihydroxyflavons u. 5,7-Dihydroxyflavonols sowie die entsprechenden permethylierten und partiell methylierten Verbindungen erstmals dargestellt. Als Vorstufen dienten die ebenfalls noch nicht synthetisierten Chalkon- und Flavanon-carbonsäuren. Die Chalkoncarbonsäuren entstanden durch Kondensation von Phloracetophenondimethyläther mit Benzaldehydcarbonsäure-3 bzw. -4. Aus ihnen wurden mit wäßriger Kaliumbicarbonatlösung die entsprechenden Flavanoncarbon-säuren schnell, schonend und in sehr guten Ausbeuten gewon-nen. Durch Selendioxydation der Chalkoncarbonsäuren ent-standen die Flavoncarbonsäuren. durch saure Hydrolyse der Isonitrosoflavanoncarbonsäuren die Flavonolcarbonsäuren. An den neuen und anderen Chalkon-Flavanon-Tautomerenpaaren wurden Untersuchungen über ihre thermische Isomerisierung durch-geführt.

Der Versuch, die neuen Flavoncarbonsäuren als Ausgangsverbin-dungen für die Synthese neuartiger p-Dichromonylbenzole ein-zusetzen, schlug fehl. Bei der Umsetzung von 5,7-Dimethoxy-flavoncarbonsäure-4' mit o-Hydroxyacetophenon in Gegenwart von Thionylchlorid und Pyridin entstand anstelle des Phenolesters ein intensiv grüner Farbstoff. Diese Reaktion läuft auch bei Verbindungen ohne Carboxylgruppe ab.

Die Untersuchung der neuen Verbindung, die in Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration einen reversiblen Farb-wechsel von grün nach gelb zeigt, wurde begonnen. Dabei wurde festgestellt, daß die Substanz frei von Chlor, Schwefel und Stickstoff ist, und daß sie sich in neutralem und alkali-schem Milieu in einen roten und dieser unter gleichen Bedin-gungen in einen blauen Farbstoff umwandelt. Allen Verbindun-gen gemeinsam ist der reversible Farbwechsel in Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration.

Ein erster Strukturvorschlag auf Grund der Molekulargewichts-bestimmung, der Elementaranalyse, des Alkaliabbaus und der UV-, IR- und MNR-Spektren und weitere Untersuchungsmöglich-keiten werden zum Schluß diskutiert.

Lebenslauf

Am 12. Juni 1937 wurde ich als Sohn des Kaufmanns Friedrich Wurm und seiner Ehefrau Käthe, geborene Kuhrmann, in Berlin geboren. 1956 bestand ich an der Hermann-Ehlers-Schule in Berlin-Steglitz die Reifeprüfung.

Meine pharmazeutische Ausbildung begann ich als Praktikant in der Apotheke des Landestuberkulosekrankenhauses Heckeshorn (1957 - 1958), ich setzte sie fort in der Herta-Apotheke in Berlin-Neukölln. Im Frühjahr 1959 bestand ich in Berlin die pharmazeutische Vorprüfung. Im Sommersemester desselben Jahres begann ich mit dem Pharmaziestudium an der Technischen Universität Berlin, das ich von 1960 an an der Freien Universität Berlin fortsetzte, wo ich im April 1962 das Staatsexamen ablegte.

Im Anschluß an das Staatsexamen wurde ich wissenschaftlicher Hilfsassistent am Pharmazeutischen Institut der Freien Universität Berlin und erhielt im Mai 1962 von Herrn Prof. Dr. Helmut Loth das Thema meiner Dissertation. 1963 erlangte ich die Approbation als Apotheker und seit Januar 1964 bin ich mit der Wahrnehmung der Geschäfte eines wissenschaftlichen Assistenten beauftragt.

